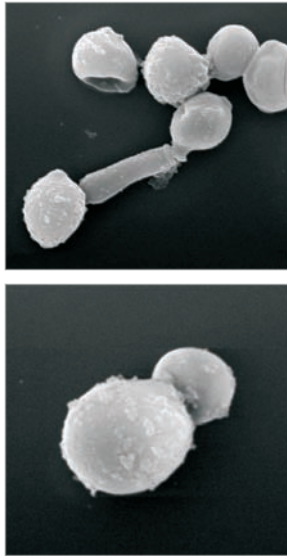


Orointestinale und humorale Candidabesiedelung bei herzgesunden, immunsupprimierten und endokarditisprophylaxepflichtigen Kindern

Rachida Siah-Benlarbi



INAUGURALDISSERTATION

zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Zahnheilkunde des
Fachbereichs Medizin der
Justus-Liebig-Universität Giessen



édition scientifique
VVB LAUFERSWEILER VERLAG

Das Werk ist in allen seinen Teilen urheberrechtlich geschützt.

Jede Verwertung ist ohne schriftliche Zustimmung des Autors oder des Verlages unzulässig. Das gilt insbesondere für Vervielfältigungen, Übersetzungen, Mikroverfilmungen und die Einspeicherung in und Verarbeitung durch elektronische Systeme.

1. Auflage 2008

All rights reserved. No part of this publication may be reproduced, stored in a retrieval system, or transmitted, in any form or by any means, electronic, mechanical, photocopying, recording, or otherwise, without the prior written permission of the Author or the Publishers.

1st Edition 2008

© 2008 by VVB LAUFERSWEILER VERLAG, Giessen
Printed in Germany



VVB LAUFERSWEILER VERLAG
édition scientifique

STAUFENBERGRING 15, D-35396 GIESSEN
Tel: 0641-5599888 Fax: 0641-5599890
email: redaktion@doktorverlag.de

www.doktorverlag.de

**Orointestinale und humorale Candidabesiedelung bei herzgesunden,
immunsupprimierten und endokarditisprophylaxepflichtigen Kindern**

Inauguraldissertation
zur Erlangung des Grades eines Doktors der Zahnheilkunde
des Fachbereichs Medizin
der Justus-Liebig-Universität Giessen

vorgelegt von Siahi-Benlarbi, Rachida geb. Siahi
 aus Neuss

Giessen 2008

Aus dem Medizinischen Zentrum für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde
Poliklinik für Kinderzahnheilkunde
des Fachbereichs Medizin der Justus-Liebig-Universität Gießen
Direktor: Prof. Dr. W.- E. Wetzel

Gutachter: Prof. Dr. Wetzel
Gutachter: Prof. Dr. Wudy

Tag der Disputation: 01. Dezember 2008

Erklärung über die eigenständige Abfassung der Arbeit

Ich erkläre: Ich habe die vorgelegte Dissertation selbständig, ohne unerlaubte fremde Hilfe und nur mit den Hilfen angefertigt, die ich in der Dissertation angegeben habe. Alle Textstellen, die wörtlich oder sinngemäß aus veröffentlichten oder nicht veröffentlichten Schriften entnommen sind, und alle Angaben, die auf mündlichen Auskünften beruhen, sind als solche kenntlich gemacht. Bei den von mir durchgeführten und in der Dissertation erwähnten Untersuchungen habe ich die Grundsätze guter wissenschaftlicher Praxis, wie sie in der „Satzung der Justus-Liebig-Universität Gießen zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis“ niedergelegt sind, eingehalten.

Gießen

Rachida Siah-Benlarbi

Für meine Familie

INHALTSVERZEICHNIS

1	EINLEITUNG UND PROBLEMSTELLUNG	1
2	LITERATURÜBERSICHT	3
2.1	Aufbau und Funktion des Hefepilzes <i>Candida albicans</i>	3
2.2	<i>Candida albicans</i> in der Kariesgenese	6
2.3	<i>Candida albicans</i> als Krankheitserreger	7
2.4	Candidiasis nach Organtransplantation	10
2.5	Endokarditis bei angeborenen Herzfehlern	15
3	MATERIAL UND METHODE	17
3.1	Studienvorbereitung	17
3.2	Patienten	17
3.3	Klinische Untersuchungen	18
3.4	Kariesdiagnostik	20
3.4.1	Bewertungskriterien	20
3.5	Mikrobiologische und biochemische Untersuchungen	22
3.5.1	Untersuchungen des Speichels	23
3.5.2	Untersuchungen der Plaque	33
3.5.3	Untersuchungen der kariösen Zahnschmelz	33
3.5.4	Untersuchungen des Stuhls	34
3.6	Immunologische Untersuchungen	34
3.6.1	Candida-Mannan-Antigen-Nachweis	34
3.6.1.1	Testdurchführung	36
3.6.2	Candida-anti-Mannan-Antikörper-Nachweis	40
3.6.2.1	Testdurchführung	41
3.7	Statistik	45
4	ERGEBNISSE	46
4.1	Alters- und Geschlechtsverteilung	46
4.2	DMF(T)-/dmf(t)-Befunde	47
4.3	Keimbesiedelung der Mundhöhle	49
4.3.1	Bakterien der physiologischen Mundhöhle	49

4.3.2	Mutans Streptokokken im Speichel.....	50
4.3.3	Laktobazillen im Speichel.....	52
4.3.4	Pufferkapazität des Speichels.....	53
4.4	Candida Spezies in der Mundhöhle und im Stuhl.....	55
4.4.1	Häufigkeit der Candidabesiedelung.....	55
4.4.2	Candidabesiedelung in Zuordnung nach Keimzahlklassen.....	56
4.4.3	Verteilung der Candida-Proben nach Spezies.....	58
4.4.4	Patienten mit Candidabesiedelung der Mundhöhle und des Stuhls.....	59
4.5	DMF/dmf(T/t)-Wert bezogene Candidahäufigkeit.....	60
4.5.1	Candidabesiedelung der Mundhöhle in Abhängigkeit vom Kariesstatus.....	60
4.5.2	Candidabesiedelung des Stuhls in Abhängigkeit vom Kariesstatus.....	62
4.6	Candidabesiedelung im Serum.....	64
4.6.1	Candida-Mannan-Antigen-Nachweis im Serum.....	64
4.6.2	Candida-anti-Mannan-Antikörper-Nachweis im Serum.....	66
5	DISKUSSION.....	68
6	ZUSAMMENFASSUNG.....	72
7	SUMMARY.....	74
8	LITERATURVERZEICHNIS.....	76
9	ANHANG.....	93

1 Einleitung und Problemstellung

In vorangegangenen Untersuchungen konnte bereits die positive Korrelation der oralen und gastrointestinalen Candidabesiedelung bei Kindern dargestellt werden [108,123]. Darüber hinaus ergaben sich Hinweise auf eine deszendierende Kolonisationen, indem durch Genotypisierung die genetische Identität der meisten Candida - Isolate aus der Mundhöhle und dem Stuhl nachgewiesen wurde [54].

SZIEGOLEIT et al. bewiesen im Jahre 1999, dass ein klarer Zusammenhang zwischen der Candidabesiedelung der Mundhöhle und Karies besteht [108]. Die höchste Keimdichte an Sprossspitzen herrscht hierbei in der kariösen Kavität, welche somit auch als bevorzugtes Biotop für Hefepilze in Betracht kommt.

Bei Kindern mit schwerwiegenden Allgemeinerkrankungen, wie zum Beispiel bei immunsupprimierten bzw. endokarditisprophylaxepflichtigen Kindern, erscheint eine Candidabesiedelung der Mundhöhle und/oder des Gastrointestinaltraktes besonders problematisch.

SCHOWENGERDT et al. zeigten in ihrer Untersuchung aus dem Jahre 1997, dass herztransplantierte Kinder gehäuft an rezidivierenden Candidainfektionen des Orintestinaltraktes leiden [99]. Auch REDDING et al. wiesen 1999 darauf hin, dass Hefen bei immunsupprimierten Patienten zu ernsthaften Problemen führen können [94]. Des Weiteren finden sich in der Literatur Hinweise, dass Candidosen auch andere systemische Komplikationen hervorrufen können [110,111]. Die dramatischste durch orale Hefepilzinfektion auftretende Komplikation ist die Mortalität, über die UIP et al. bei drei von 100 Patienten berichten [110]. Bei den beschriebenen Fällen handelt es sich um Pilze der Gattung Candida (*C. albicans* und *C. tropicalis*) sowie dem Schimmelpilz Aspergillus. VERMA et al. zeigten 2005, dass 32 von insgesamt 79 untersuchten lebertransplantierten Kindern eine Pilzinfektion aufwiesen. Bei 29 von diesen Kindern stellten Candida Spezies, vor allem *Candida albicans* (66%), den Erreger dar [113]. Besonders schwierig gestaltet sich die Therapie der Candidainfektionen bei den immunsupprimierten und/oder endokarditisprophylaxepflichtigen Patienten, wenn diese trotz Antimykotikagabe rezidivierend an Candidämien erkranken. MASIA et al. erklärten dies mit der immer häufiger auftretenden Resistenz verschiedener Candida Spezies gegen das verabreichte Antimykotikum [74]. So sind zum Beispiel *Candida glabrata* - und *Candida krusei* - Stämme trotz Gabe von Fluconazolen im Organismus

nachgewiesen worden, das heißt, sie sind diesem Antimykotikum gegenüber sehr widerstandsfähig [74,106,112]. Auch in der Mundhöhle reicht eine alleinige antimykotische Therapie nicht aus, um die Pilze langfristig zu eliminieren, da sich - wie oben erwähnt- tiefe kariöse Zahnkavitäten als Überlebensnischen für Hefen erwiesen haben. Von daher ist die umfassende Gebissanierung mit Beseitigung aller kariösen Defekte von größter Wichtigkeit [108].

Ziel der vorliegenden Studie war es deshalb, die Candida-Antigen- und Candida-Antikörperkonzentration sowie die Häufigkeit der Candidabesiedelung der Mundhöhle und des Magen-Darmtraktes bei herzgesunden, immunsupprimierten und/oder endokarditisprophylaxepflichtigen Kindern in Relation zum Kariesstatus zu eruieren.

Dabei interessierten folgende Fragestellungen:

- Unterscheidet sich das Keimspektrum des Orointestinaltraktes sowohl immunsupprimierter als auch endokarditisprophylaxepflichtiger herzkranker Kinder von dem nicht herzkranker Jungen und Mädchen?
- Ist eine Candidakolonisation des Magen-Darmtraktes und der Mundhöhle abhängig vom kariösen Gebissbefund der Kinder?
- Haben immunsupprimierte und/oder endokarditisprophylaxepflichtige Mädchen und Jungen ein höheres Kariesrisiko?
- Wie stellt sich die Quantität der Candida-Antigene und -Antikörper im Serum bei herzgesunden, endokarditisprophylaxepflichtigen und/oder immunsupprimierten Kindern dar?
- Lässt sich ein Zusammenhang zwischen der orointestinalen Candidabesiedelung und dem Nachweis von Candida-Antigenen und -Antikörpern im Serum bei endokarditisprophylaxepflichtigen und/oder immunsupprimierten Kindern belegen?

2 Literaturübersicht

2.1 Aufbau und Funktion des Hefepilzes *Candida albicans*

Die Gattung *Candida* wird der morphologischen Einteilung nach den Sprosspilzen (Hefen) zugeordnet. Diese liegen zunächst als rundliche Zellen, sogenannte Blastosporen, vor, wobei man die einzelnen Arten anhand ihrer morphologischen Merkmale voneinander unterscheiden kann. Die Blastosporen vermehren sich ungeschlechtlich durch Knospung (Sprossung) und wachsen seitlich aus der 4-10 µm großen Mutterzelle als 2,5 x 3 µm große Tochterzellen heran. Letztere schnüren sich schließlich ab und werden allmählich größer (Abb. 1 und 2).

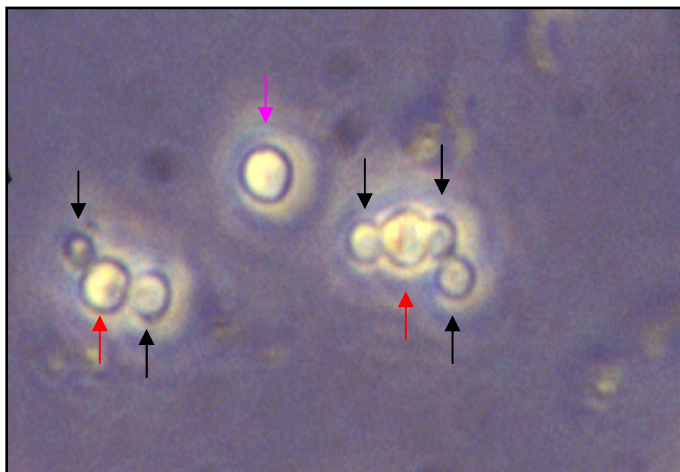


Abb. 1: *Candida*-Sprossung in der Übersicht (Vergr.: 500x).

- = Mutterzelle
- = Tochterzelle
- = Blastospore

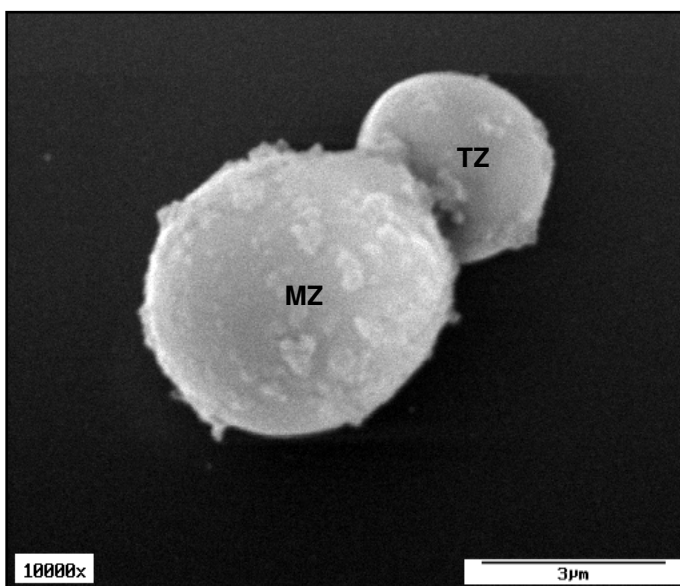


Abb. 2: *Candida*-Sprossung in rasterelektronenmikroskopischer (REM-) Darstellung.

- MZ** = Mutterzelle
- TZ** = Tochterzelle

Die Anzüchtung von *Candida* kann auf Sabouraudagar, einem einfachen Peptonmedium mit Glukosezusatz bei 35-37°C erfolgen [82]. Dabei entstehen weiße, porzellanartige Kolonien, die einen hefeartigen Geruch ausströmen. Ein spezieller Nachweis von *Candida* Spezies wird auf CHROMagar™-Platten durchgeführt. Hierbei bilden sich innerhalb weniger Tage die Kolonien bei 37°C durch die Reaktion von speziesspezifischen Enzymen mit einem Chrom-Substrat unter unterschiedlicher Farbgebungen aus und können entsprechend klassifiziert werden [18,22,56,83]. Der sogenannte Keimschlauchtest („germ tube test“) dient ergänzend als „Schnelltest“ für *Candida albicans* [53]. Dabei werden 1-2 Hefekolonien in 500 µl Humanserum geimpft und danach für 3 Stunden bei 37°C inkubiert. Während dieser Zeit wandelt sich der Keim von der Hefe- in die Hyphenform um und kann entsprechend unter dem Mikroskop leicht als „Keimschlauch“ erkannt werden (Abb. 3).



Abb. 3: (Rot) Markierter Keimschlauch von *C. albicans* 180 Minuten nach Inkubation. (Vergr.: 500x)
→ = Blastospore

Die sich verändernde Morphologie von *Candida* wird als Dimorphismus bezeichnet und ist abhängig von bestimmten Wachstumsbedingungen, wie Temperatur, Nährboden etc.. Charakteristisch für *Candida albicans* ist weiter die Bildung von echten Hyphen (Fadenform), die auch als Übergang von der saprophytären in die pathogene Besiedlungsform des Pilzes einzuordnen ist (Abb. 4).

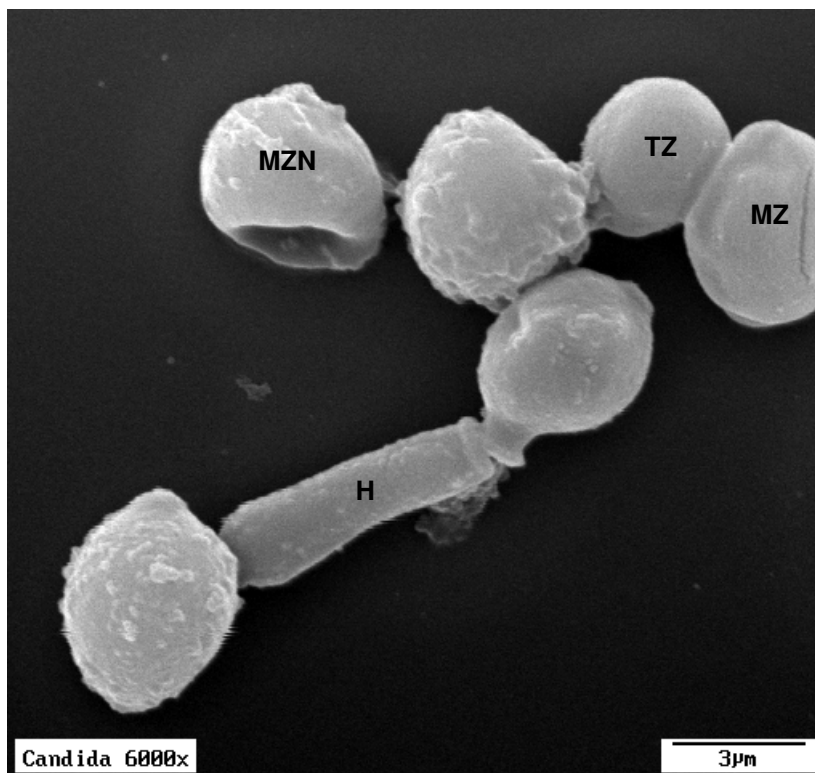


Abb. 4: *C. albicans*-
Dimorphismus
(REM-Aufnahme)

H = Hyphe

MZ = Mutterzelle

TZ = Tochterzelle

MZN = Mutterzelle
mit Narbe, die bei
der Abschnürung
der Tochterzelle
zurück bleibt

Des Weiteren werden die verschiedenen Pilzarten auch durch ihre Fähigkeit, bestimmte Stoffe (meist Zucker) zu hydrolysieren oder in deren Gegenwart zu wachsen, voneinander unterschieden. Dies geschieht mittels biochemischer Keimidentifizierungssysteme, wie zum Beispiel dem AUXACOLOR™2-Test-System, welches auf dem Prinzip der Zuckerassimilierung beruht [27,28,32,96]. Da Hefen der Gattung *Candida* als Krankheitskeime für Systemmykosen gelten und diese meist durch Persorption durch die intakte Darmwand eindringen, wird mit Hilfe immunologischer Methoden eine schnelle Diagnosesicherung angestrebt [58]. Dabei werden makromolekulare Antigene von Pilzen, sog. Mannane, während der Infektion in Körperflüssigkeiten nachgewiesen [103,126]. Ein Mannan stellt ein an der Hefezellwand nicht-kovalent gebundenes Polysaccharid dar. Als Testsystem scheint eine Kombination des Platelia-*Candida*-Antigentests mit dem Platelia-*Candida*-Antikörpernachweis (PLATELIA™-CANDIDA Ab/Ac/Ak, Bio-Rad, Marnes-la-Coquette / France) die Sensitivität signifikant zu erhöhen und zu einem sicheren Testergebnis zu führen [86,100,102].

Die physiologische Flora der Mundhöhle wird in der Regel von Bakterien geprägt [49]. Daneben lassen sich häufig aber auch Sprosspilze, wie zum Beispiel *Candida*, als übliche Kommensalen in der Mundhöhle nachweisen. Von der Gattung *Candida* gibt es mehr als 100 unterschiedliche Spezies, wobei die nachfolgenden Arten besonders von medizinischer Bedeutung sind: *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. krusei*, *C. lusitaniae*, *C. dubliniensis* und *C. kefyr* [64,81,84,128]. In 45% der Fälle konnte *Candida albicans* bei Neugeborenen, in 45-65% bei gesunden Kindern und in 30-45% bei gesunden Erwachsenen aus der Mundhöhle isoliert werden [4]. Sprosspilze gehören so zur unauffälligen mikrobiellen Flora des Menschen, können aber als klinisches Reservoir für spätere Infektionen dienen. Hauptsächlich Hefen der Gattung *Candida* mit einem Anteil von 80% - und hier vor allem *Candida albicans* - gelten als Erreger von Systemmykosen [52]. Die Normalflora der Mundhöhle stellt insofern einen fortdauernden Stimulus für das Immunsystem und dessen Entwicklung dar. Sie kann also durchaus opportunistisch pathogen werden, wenn ihre spezifische und unspezifische Kontrolle durch den Wirtsorganismus reduziert wird. Es kommt dann zum Übergang vom Kommensalismus zur Infektion und an der Mundschleimhaut (z. B. bei Patienten, die unter medikamentöser Immunsuppression stehen) treten die bekannten Anzeichen einer Mykose auf [99]. Auch bei Patienten mit angeborenen Herzfehlern können solche schwerwiegenden Komplikationen (z. B. infektiöse Endokarditis) auftreten [29,61,78]. Bleibt zu ergänzen, dass bei immunsupprimierten Patienten orale Pilzinfektionen in seltenen Fällen auch durch andere Spezies wie *Aspergillus*, *Rhizopus*, *Tuloropsis*, *Phycomycetes* und *Histoplasma* verursacht werden können [39,40].

2.2 *Candida albicans* in der Kariesgenese

Dass *Candida* eine wichtige Rolle bei der Kariesgenese spielen kann, zeigten WETZEL et al. bereits 1997 in einer In-vitro Imitation des menschlichen Mundhöhlenmilieus [122]. Die Autoren fanden heraus, dass:

- *Candida albicans* allein in der Lage ist, eine festanhaftende Zahnplaque auf der Oberfläche von humanem Zahnschmelz zu bilden,
- sich der pH-Wert innerhalb der selbstgebildeten Plaque bei Glukosezufuhr vom Neutralwert (7,0) auf 4,8 - 5,1 reduzierte und

- die Zahnoberfläche unterhalb des abakteriell gebildeten Zahnbelags destruierte.

Diese Veränderungen bestätigten die Vermutung, dass neben *Streptococcus mutans* und Laktobazillen auch *Candida albicans* als potentiell initialer Karieskeim anzusehen ist. 2002 konnten NIKAWA et al. ebenfalls in einer In-vitro Studie beweisen, dass *Candida albicans* im Vergleich zu *Streptococcus mutans* eine zwanzigfach höhere Adhärenz an Hydroxylapatit aufweist [80]. Hier wurde *Candida albicans* mit seinem karieserzeugenden Potential u. a. auch als Risikofaktor für die Entstehung von Wurzel- und /oder Dentinkaries angesehen. Weiterhin ist bekannt, dass *Candida albicans* in der Lage ist, sowohl unter aeroben als auch unter anaeroben Bedingungen Zucker zu verwerten [95].

SZIEGOLEIT et al. belegten darüberhinaus, dass ein deutlicher Zusammenhang zwischen einer Candidabesiedelung der Mundhöhle und dem Ausmaß der Karies besteht [108]. Die höchste Keimdichte an Sprossspitzen wiesen hierbei die kariösen Kavitäten auf, welche somit als bevorzugtes Biotop für Hefepilze anzusehen sind.

2.3 *Candida albicans* als Krankheitserreger

Zur Beschreibung von Infektionen mit *Candida* werden die Begriffe Candidiasis und /oder Candidosis verwendet. Unter einer Candidiasis versteht man die Anwesenheit von *Candida* Spezies, vorwiegend *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. krusei* oder *C. glabrata*, bei gleichzeitig klinischen Zeichen und Symptomen einer Erkrankung. Die orale Candidiasis kann sich auf verschiedene Weise manifestieren. Bereits 1966 stellte LEHNER die meist gebrauchte Klassifikation auf [69]:

- 1.) akute pseudomembranöse Candidiasis
- 2.) akute atrophische Candidiasis
- 3.) chronisch atrophische Candidiasis
- 4.) chronisch hyperplastische Candidiasis und ihre 4 Untergruppen

Da bei dieser Zuordnung jedoch klinische und pathologische Kriterien vermischt werden, die leicht zu Verwechslungen führen könnten, schlugen AXÉLL et al. 1997 die nachfolgende Klassifikation vor [13]:

1. Primäre orale Candidiasis

a) akute Formen

- pseudomembranös
- erythematös

b) chronische Formen

- pseudomembranös
- erythematös
- hyperplastisch (knotig, plaqueartig)

c) Candida-assoziierte Läsionen

- Prothesenstomatitis
- Cheilitis angularis
- mediane rhomboide Glossitis

d) keratinisierte Läsionen mit Candida superinfiziert

- Leukoplakie
- Lichen planus
- Lupus erythematosus

2. Sekundäre orale Candidiasis

- orale Manifestationen der systemischen mucocutanösen Candidiasis

1999 konnten zwei europäische Multicenter Studien von VISCOLI et al. und PFALLER et al. nachweisen, dass *C. albicans* mit 49-53% die am häufigsten isolierte Spezies, gefolgt von *C. prapsilosis* (11-21%), *C. glabrata* (10-12%), *C. tropicalis* (6-11%), *C. krusei* (1-9%) und anderen Candida Spezies (1-10%) war [89,115]. Obwohl *C. albicans* damit die häufigste Unterart war, wurden in den letzten Jahren trotzdem immer noch neue non-albicans-Spezies identifiziert, die auch vermehrt bei immunsupprimierten herztransplantierten Patienten auftreten und so

an medizinischer Bedeutung gewinnen [73,92,93,101,120]. Es wird vermutet, dass dies zum einen an der zunehmenden Anzahl immunsupprimierter Patienten mit höherem Risiko für Infektionen und zum anderen an den gegen Antimykotika resistenten Spezies liegt [8,9,74,112]. So berichten ELLIS et al. und KOVACICOVA et al. 2001 und 2002 über Amphotericin B-resistente Isolate von *C. albicans*, *C. guilliermondii*, *C. krusei*, *C. lusitaniae*, *C. parapsilosis* und *C. tropicalis* [36,62]. Man nimmt an, dass es während der antimykotischen Therapie zur Selektion resistenter Spezies kommt, so dass vor allem immunsupprimierte Patienten rezidivierend an Candidainfektionen leiden [26,99]. Candida kann sich bei gesunden Menschen für gewöhnlich in der Mundhöhle, im Gastrointestinaltrakt, auf der Haut und vaginal lokalisieren. Trotzdem entwickeln nur wenige der betroffenen Personen eine Candidiasis. Daraus lässt sich schließen, dass sich die Pathogenität nur dann auswirkt, wenn dafür günstige Bedingungen vorliegen. Prädisponierende Virulenzfaktoren können ein defektes Immunsystem (AIDS), Diabetes mellitus und iatrogene Faktoren wie Antibiotikatherapie, Gabe von Immunsuppressiva etc. sein [4,12,46]. In solchen Fällen können die fakultativ pathogenen Erreger dann zu schwerwiegenden Komplikationen führen, wobei der Oropharynx und der gesamte Gastrointestinaltrakt als Hauptreservoir für Candida Spezies angesehen werden, die dann als Ausgangspunkt für weitere Organinfektionen in Frage kommen [58,97,99]. Konkret kommt es durch Veränderung der Durchlässigkeit des Darmepithels zum Übertritt von Hefezellen in die Blutbahn und nachfolgend zur Absiedlung in verschiedene Organe [58]. Auch der Zusammenhang der deszendierenden Candidakolonisationen aus der Mundhöhle in den Magen-Darm-Trakt verdient bei immunsupprimierten Patienten höchste Beachtung [54,58,97].

2.4 Candidiasis nach Organtransplantation

Nach erfolgter Organtransplantation/Herztransplantation erhalten Patienten gemäß derzeitigem medizinischem Erkenntnisstand lebenslang Immunsuppressiva, welche dazu dienen, das Immunsystem zu unterdrücken. Im Regelfall schützt das Immunsystem den Körper vor Krankheiten, indem es fremde Zellen (z. B. Bakterien) oder veränderte Körperzellen (z. B. virusinfizierte) erkennt und diese eliminiert. Ein transplantiertes Organ wird ebenfalls als Fremdkörper angesehen und soll gleichermaßen abgestoßen werden. Eine Reaktion des Immunsystems, die sich als lebensgefährlich für den Empfänger des Herzens erweist. Dem wirkt das Immunsuppressivum entgegen, indem es die Bildung der Immunzellen blockiert und somit die körpereigene Abstoßungsreaktion des Fremdorgans wirksam unterbindet. Als Folge der nach der Operation verabreichten Immunsuppressiva wird allerdings gleichzeitig die Fähigkeit des Organismus zur Abwehr von pathogenen Erregern deutlich herabgesetzt. In der Mundhöhle kann sich so eine mikrobielle Flora aus pathogenen Keimen etablieren, die nach systemischer Ausbreitung im Körper in der Lage ist, schwere Komplikationen hervorzurufen [30,58,110]. Derartige Infektionen können sowohl die Morbidität (Krankhaftigkeit) als auch die Mortalität (Sterblichkeit) erhöhen [10,24,34,51]. 1991 zeigten SHUMAKOV et al., dass 8 von 35 Patienten nach orthoper Herztransplantation an infektiösen Komplikationen verstarben, wobei in einem Fall sogar eine systemische Candidose als Todesursache erkannt wurde [104]. Nachfolgende Studien von UIP et al. (1996), de PAUW (2000) und GROSSI (2000) stellen Pilzinfektionen als einen der Hauptgründe für Morbidität und Mortalität bei Patienten nach Organtransplantation dar [34,48,110]. SCHOWENGERDT et al. berichteten 1997 über eine Mortalitätsrate von 52% bei herztransplantierten Kindern mit Pilzinfektionen [99]. 2005 vermerkten WEINBERGER et al. noch eine Todesrate von 36% bei immunsupprimierten Patienten durch *C. albicans* [120]. Bekannt ist, dass eine Organmykose erst dann auftritt, wenn beim vormals gesunden Menschen ein saprophytärer Pilz durch Schwächung des Abwehrsystems oder durch Terrainänderung zum virulenten Erreger wird [119]. Dabei ist neben dem endogenen Infektionsmodus auch eine Pilzinfektion des Organismus auf dem exogenen Wege, wie zum Beispiel über Venen- /Arterienkatheter oder auch durch künstliche Ernährung möglich [8,9,127]. Das klinische Bild der Candida-Sepsis ist gekennzeichnet durch ein außerordentlich großes Spektrum von Krankheitsbildern.

Dazu gehören sowohl Fieber, Schüttelfrost, Stomatitis, Ösophagitis, Pneumonie und Ophthalmitis, als auch intraabdominale Abszesse, Cholangitis und Peritonitis [47,57,77,88,90]. Systemische Candidainfektionen können hierbei entweder nur ein Organ betreffen oder aber zu einer Candida-Septikämie führen [47,57,77,81]. Eine nur oropharyngeale Candidiasis wird derzeit nicht als alleinige Ursache für die insgesamt erhöhte Morbidität angesehen. Erst beim Zusammenspiel mehrerer Faktoren, wie zum Beispiel der deszendierenden Kolonisationen von Candida in den Gastrointestinaltrakt käme es zu der lebensbedrohenden Infektion [54,71]. Um solchen Komplikationen zu begegnen, haben sich bei immunsupprimierten Patienten nach Organtransplantation folgende Medikationen bewährt:

- Immunsuppressiva:
 - a. Ciclosporin A (Sandimmun®, Gengraf®, Neoral®)
 - b. Tacrolimus (Prograf®, FK-506)
 - c. Mycophenolatmofetil (CellCept®)
 - d. Azathioprin (Imurek®)
 - e. Everolimus (Certican®)
 - f. Rapamycin (Sirolimus®, Rapamune®)
 - g. Kortikosteroide, Interleukin 2-Rezeptor-Antikörper (Simulect®)
- Antivirale Therapie (Wirkstoffe: Acyclovir, Gancyclovir)
- Antimykotika (Wirkstoffe: Amphotericin B, Fluconazol)
- Antibiotika (Wirkstoffe: Trimethoprim-Sulfamethoxazol)

Als Risikofaktor für Infektionen nach Organtransplantation muss die immunsuppressive Therapie mit berücksichtigt werden. Seit der Einführung von Cyclosporin Ende der 70er Jahre wurden die Überlebenszeiten der Patienten deutlich verlängert, jedoch konnte die Inzidenz von Pilzinfektionen nicht signifikant reduziert werden [31,87]. Cyclosporin ist ein fungales, zyklisches Polypeptid, welches aus dem Pilz *Tolyplacadium inflatum* isoliert wird [31]. Es gehört zur Gruppe der Calcineurin-Inhibitoren (-Hemmer) und blockiert im Zellinneren das Enzym Calcineurin, das an der Bildung des Transkriptionsfaktors NFAT (*nuclear factor of activated T-cells*) in T-Lymphozyten beteiligt ist. NFAT reguliert im Zellkern

die Umschreibung verschiedener Gene, so unter anderem Interleukin-2 und Interferon gamma. Fehlt Interleukin-2 werden entsprechend auch keine T-Lymphozyten mehr gebildet.

Durch die Immunsuppressiva wird neben der Unterbindung der Transplantatabstoßung auch das Abwehrsystem, das in erster Linie gegen eindringende Krankheitserreger wie zum Beispiel Viren, Bakterien und Pilze, aber möglicherweise auch gegen das Wachstum von Krebszellen im eigenen Organismus gerichtet ist, generell geschädigt und damit unterdrückt [67]. Gehäuftes Auftreten von gefährlichen, lebensbedrohenden Virusinfektionen sowie Krebswachstum in der Frühphase nach Transplantation, aber insbesondere nach langjähriger immunsuppressiver Therapie transplantierte Patienten, kann die Folge sein [16,66,67]. Des Weiteren wird Cyclosporin neben oraler Candidiasis, Herpes simplex und Xerostomie mit einer hohen Inzidenz der Gingivahyperplasie assoziiert [25,31,37,107]. ANSARI et al. konnten 2006 zeigen, dass alle 10 untersuchten herztransplantierten Kinder, welche Cyclosporin als Immunsuppressivum erhalten hatten, an einer mehr oder weniger ausgeprägten generalisierten Gingivahyperplasie litten [11]. Weitere Nebenwirkungen von Cyclosporin reichen von Hirsutismus (übermäßiger Haarwuchs) und Bluthochdruck bis hin zu schwerwiegenderen Nebeneffekten wie Magen-Darm-Trakt-, Nieren- und Leberschädigungen [2,31,75]. ABRAMOWICZ et al. (2000) und von SOBH et al. (2001) berichteten diesbezüglich, dass immunsupprimierte Patienten vermehrt an Cyclosporin induzierten Leber- und/oder Nierenversagen erkrankten [2,105].

Tacrolimus, ein Immunsuppressivum ebenfalls aus der Gruppe der Calcineurin-Inhibitoren, gilt als das stärker wirksame Präparat im Vergleich zu Cyclosporin. Ende der 80er Jahre wurde es klinisch eingeführt. Akute Abstoßungsreaktionen konnten damit drastisch - unter 10% - gesenkt werden, allerdings mit dem Nachteil, dass auch das Abwehrsystem noch stärker in Mitleidenschaft gezogen wurde [66,67]. Gehäuft auftretende Immunsuppression-assoziierte Spätkomplikationen wie zum Beispiel Nierenversagen, Bluthochdruck, gastrointestinale Störungen und neurologische Erkrankungen waren die Folge [38].

Aufgrund des spezifischen Wirkungsmechanismus sowohl von Cyclosporin als auch von Tacrolimus auf die Aktivität der T-Zell getragenen immunologischen

Kompetenz treten bei Patienten nach Organtransplantationen häufig Reaktivierungen bzw. auch Bildungen von neuartigen Virusinfektionen (z. B. Polyomavirusinfektionen) und Krebswachstum auf [66,114]. Besondere Bedeutung kommt dabei der Infektion durch das Cytomegalievirus (CMV) zu, wobei es sich auch hier um eine primäre Infektion oder um die Reaktivierung einer latenten Infektion handeln kann. Es hat sich herausgestellt, dass durch die Infektion mit dem Cytomegalievirus die Immunsuppression des befallenen Organismus noch weiter verstärkt wird [41]. Des Weiteren konnten GEORGE et al. 1997 zeigen, dass CMV-Infektionen auch dazu beitragen, opportunistische Superinfektionen (insbesondere Pilzinfektionen) bei Patienten nach Transplantation auszubilden [45]. Eine antivirale Therapie kann somit möglicherweise indirekt die Inzidenz von Pilzinfektionen verringern [117].

In den letzten Jahren wurde auch ein zunehmendes Auftreten von Immunsuppression-assoziierten Tumorerkrankungen beobachtet. Besondere Bedeutung kommt hierbei der „Post-Transplantations Lymphoproliferativen Erkrankung“ (post-transplant lymphoproliferative disease = PTLD) zu. Die PTLD, eine „klassische“ unter aggressiver Immunsuppression entstehende Tumorerkrankung ist nach GAO et al. mit einer Inzidenz von 0,8% - 20% vertreten und wird als Risikofaktor für den Verlust des Transplantates bzw. für den Tod des Patienten angesehen [43]. Die Pathogenese der PTLD ist eng mit dem Epstein-Barr Virus (EBV) verbunden. Mehr als 95% der erwachsenen Bevölkerung ist weltweit mit dem EBV infiziert. Die primäre Infektion geht dabei in der Regel bald in eine latente Infektion einzelner B-Lymphozyten über, die äußerst immunogen ist und in vivo zu einer massiven Expansion virusspezifischer und unspezifischer T-Zellen mit konsekutiver Eliminierung von EBV-infizierten B-Zellen führt. Eine kleine Gruppe EBV-infizierter B-Zellen entzieht sich jedoch regelhaft dieser Immunantwort, indem nur noch ein einzelnes virales Protein exprimiert wird. Während bei immunkompetenten Menschen eine ständige Balance zwischen EBV-infizierten B-Zellen und zellulärer Immunkontrolle besteht, findet man bei Immunsupprimierten eine gesteigerte Virus-Reproduktion und eine höhere Zahl an latent EBV-infizierten B-Lymphozyten im peripheren Blut [14]. In diesen latent infizierten B-Zellen wirkt EBV als kontinuierlicher Proliferationsreiz. Virale Proteine wie das EBV-spezifische „latent membrane protein 1“ (LMP1) wirken dabei direkt auf zelluläre Mechanismen

der Wachstumskontrolle ein und induzieren so eine Hyperproliferation [70]. Diese unvollständig kontrollierte, EBV-getriggerte B-Zell-Proliferation ist häufig Ausgangspunkt der Entwicklung einer PTLD. EBV scheint vor allem in der frühen Phase in der PTLD-Entstehung ein notwendiger Stimulus zu sein und nach Akkumulation z. B. proliferationsfördernder und/oder Apoptoseresistenz vermittelnder Mutationen für das zelluläre Wachstum und Überleben der Lymphomzellen entbehrlich zu werden [35,79]. Bei etwa der Hälfte der EBV-naiven Transplantatempfänger (mehr als 95% der erwachsenen Organempfänger sind bereits vor Transplantation serologisch EBV-positiv), kommt es in Folge der Transplantation mit einem Transplantat eines EBV-positiven Spenders zu einer symptomatischen EBV-Infektion, die meist unter einem Mononukleose-ähnlichen Bild oft chronisch verläuft und die Frühform einer manifesten PTLD darstellt. Die Unfähigkeit des Transplantatempfängers unter immunsuppressiver Therapie eine komplette EBV-Immunität auszubilden, scheint hierfür der Grund zu sein. Ein weiterer Faktor, der die Inzidenz der PTLD maßgeblich beeinflusst, ist das transplantierte Organ. Insgesamt scheinen aber vor allem Intensität und Dauer der Immunsuppression von Bedeutung zu sein. Abstoßungskrisen mit der Notwendigkeit zur verstärkten Immunsuppression stellen daher einen eigenständigen Risikofaktor für die Entwicklung einer PTLD dar [23,43]. Das Auftreten der PTLD nach Organtransplantation zeigt zwei Häufigkeitsgipfel mit jeweils spezifischen Besonderheiten. Der erste Häufigkeitsgipfel der PTLD tritt gehäuft in den ersten 12 Monaten nach Transplantation auf („frühe PTLD“). KATZ et al. beobachteten dies 2007 bei insgesamt 9 von 95 herztransplantierten Kindern [60]. Die mediane Manifestationszeit beträgt 6 Monate nach Transplantation. Diese Lymphome zeigen eine enge EBV-Assoziation. Ein zweiter Häufigkeitsgipfel findet sich 5-10 Jahre nach Transplantation im Sinne einer „späten PTLD“ (mediane Manifestationszeit 7,5 Jahre nach Transplantation) [68,85]. LAI et al. konnten 2006 zeigen, dass PTLD-Infektionen bei immunsupprimierten organtransplantierten Kindern dazu beitragen opportunistische Superinfektionen auszubilden. Sie berichten in insgesamt 5 von 52 Fällen, die an einer PTLD-Infektion erkrankten und entweder mit anti-CD20-Antikörpern, Chemotherapie oder der Herabsetzung der Immunsuppression therapiert wurden. Ein Kind jedoch sprach weder auf die chemotherapeutische noch anti-CD20-Antikörper-Therapie an und starb in Folge einer systemischen Candidiasis [65].

2.5 Endokarditis bei angeborenen Herzfehlern

Unter dem Terminus „Congenital Heart Disease (CHD)“, im Deutschen „angeborener Herzfehler“, werden verschiedenen Erkrankungen zusammengefasst, die von Geburt an durch eine Störung bei der Entwicklung des Herzens zustande kommen. Ein angeborener Herzfehler kann nach der Geburt jahrelang unbemerkt bleiben oder aber bereits bei der Geburt offensichtlich sein. Es gibt Herzfehler, die einzeln, kombiniert oder im Rahmen anderer Erkrankungen als komplexe Erscheinungsbilder vorkommen. Von 1.000 Neugeborenen leiden 8-10 Kinder unter einem angeborenem Herzfehler oder einem Fehler der großen Gefäße, die zum Herzen hin bzw. wegführen [59]. Etwa 25% dieser Kinder leiden noch unter einer Reihe anderer genetisch bedingter Erkrankungen, wie zum Beispiel dem Down-, Williams-, oder Noonan-Syndrom, wobei das Down-Syndrom hier mit 78,3% am meisten vertreten war [15]. ALABDULGADER et al. konnten 2006 zeigen, dass bei 44 von 740 Kindern mit angeborenem Herzfehler auch das Down-Syndrom diagnostiziert wurde [7].

Ohne Behandlung sterben 85% der Kinder im Säuglingsalter bzw. im 1. Lebensjahr. Lediglich 15% könnten ohne Behandlung das Erwachsenenalter erreichen. Derzeit lassen sich aber etwa 80% der diagnostizierten angeborenen Herzfehler durch Operation oder interventionelle Therapie behandeln, während bei den übrigen 20% entweder eine spontane Heilung eintritt oder diese inoperabel sind und früher oder später zum Tode führen [16].

Die Pathologie der angeborenen Herzfehler wurde bereits zu Beginn des 20. Jahrhunderts erforscht. Jedoch behinderte „die Angst vor Eingriffen am Herzen nicht nur die Entwicklung und Forschung, sondern auch das Wissen um angeborene Herzfehler war ungenügend und eine Nomenklatur musste geschaffen werden“ [72]. Die erste Nomenklatur wurde 1936 durch den „*Atlas of Congenital Heart Disease*“ von MAUDE ABBOTT beschrieben, der 2006 in einer Neuauflage veröffentlicht wurde [1,125]. Bis heute ist dies noch die gültige Klassifikation angeborener Vitien [19,20]. 2000 wurde das Komitee „*International Nomenclature Committee for Pediatric and Congenital Heart Disease*“ gegründet, woraus letztendlich die

„*International Society for Nomenclature of Paediatric and Congenital Heart Disease (ISNPCHD)*“ entstand.

Bakteriämien, die im Rahmen zahnmedizinischer Eingriffe entstehen, können bei Patienten mit entsprechenden Risikofaktoren zur infektiösen Endokarditis führen [78]. Kinder mit angeborenen Herzfehlern gehören laut den Richtlinien der „*American Heart Association*“ auch zu der Risikogruppe, die an einer infektiösen Endokarditis erkranken können [124]. Zahnärztliche Eingriffe, wie zum Beispiel Wurzelkanalbehandlungen, Zahnsteinentfernungen oder Zahnfüllungen, können bei Patienten mit CHD zur infektiösen Endokarditis führen. VOGEL et al. berichteten über drei Patienten mit angeborenen Herzfehlern, die an einer Endokarditis erkrankten, nachdem ohne Endokarditisprophylaxe eine Zahnsteinentfernung durchgeführt worden war [116]. 2003 erklärten KNIRSCH et al., dass Zahnerkrankungen als maßgebliche Risikofaktoren zur Entstehung infektiöser Endokarditiden angesehen werden müssen [61]. Des Weiteren fanden sie heraus, dass Karies und Gingivitis charakteristisch für den Gebissbefund von CHD-Patienten waren und somit das Risiko erhöhte, an einer infektiösen Endokarditis zu erkranken. Auch FRANCO et al. führen aus, dass Kinder mit kongenitalen Herzerkrankungen mehr kariöse Läsionen (52%) aufweisen als die gesunde Kontrollgruppe (32%) [42]. Auch sie erklärten, wie KNIRSCH et al., dass eine gute Oralhygiene ein wichtiger Aspekt zur Prävention infektiöser Endokarditiden sei. Es gibt eine Reihe von Erregern, die eine Endokarditis verursachen können, am häufigsten handelt es sich jedoch um Streptokokken (60-80%) oder Staphylokokken (20-35%) [29]. Dagegen finden sich in ca. 5-10% der Fälle Endokarditiden, die durch Pilzinfektionen verursacht werden.

3 Material und Methode

Die klinischen Untersuchungen wurden im Zeitraum von 2004 - 2007 in der Poliklinik für Kinderzahnheilkunde und im Zentrum für Kinder- und Jugendheilkunde (Kinderklinik) durchgeführt. Die mikrobiologischen und immunologischen Untersuchungen erfolgten in Kooperation mit dem Institut für medizinische Mikrobiologie der Justus-Liebig-Universität Gießen.

3.1 Studienvorbereitung

Zur Dokumentation der erhobenen Daten wurde ein Befund- /Anamnesebogen erstellt (Anhang 1), wobei die anonyme individuelle Kennzeichnung der Patienten mittels laufender Registriernummer erfolgte. Auf diese Weise ließ sich später die Zuordnung der Befundbögen zu den Patienten und damit auch die Einhaltung der gesetzlichen Bestimmungen des persönlichen Datenschutzes erfüllen. Für die Untersuchungen lag das Einverständnis der Eltern und die Zustimmung der Ethik-Kommission (datiert vom 02.09.2004) am Fachbereich Medizin der Justus-Liebig-Universität Gießen (Aktenzeichen: 130/04) vor (Anhang 2 und 3).

3.2 Patienten

In die Studie wurden 78 Kinder im Alter von 2 bis 16 Jahren aufgenommen, die sich aus unterschiedlichen Gründen entweder in stationärer oder ambulanter prae-/postoperativer Behandlung der Universitätskinderklinik/Herzzentrum Giessen befanden und konsiliarisch von der Poliklinik für Kinderzahnheilkunde untersucht/versorgt wurden.

Es erfolgten folgende Gruppenzuordnungen (Abb. 5):

Gruppe I:	Kinder, die weder herzkrank und endokarditispro-
(Vergleichsgruppe)	phylaxepflichtig noch immunsupprimiert waren

- Gruppe II: Endokarditisprophylaxepflichtige Kinder mit angeborenen Herzerkrankungen (**C**ongenital **H**eart **D**isease - CHD)
- Gruppe III: Herztransplantierte Kinder (HTx), die endokarditisprophylaxepflichtig und immunsupprimiert waren.

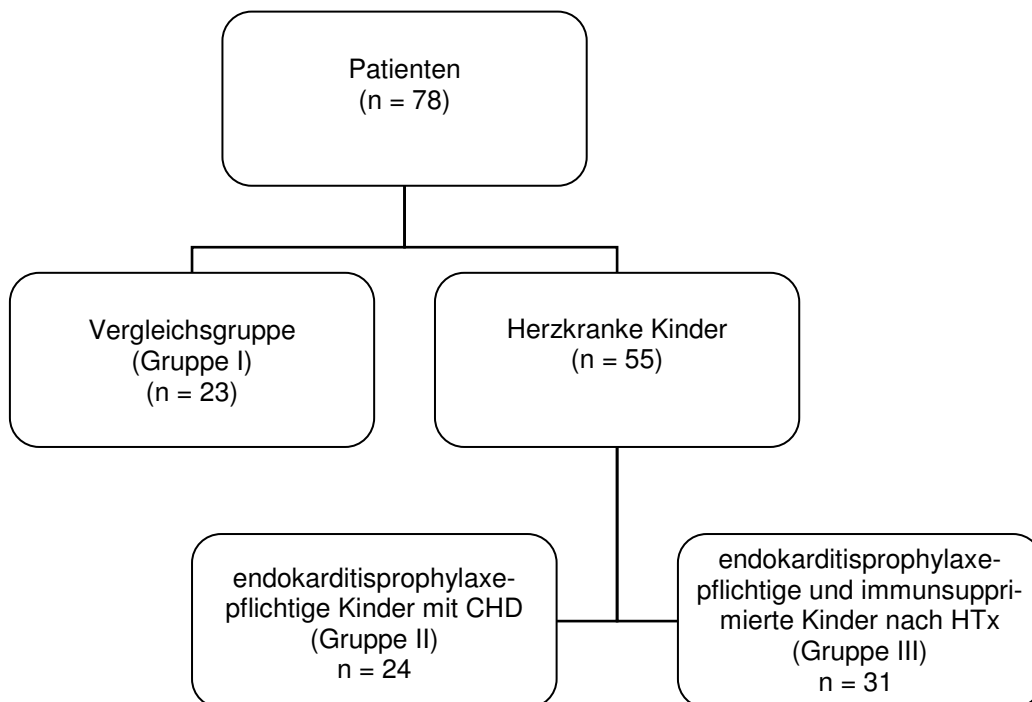


Abb. 5: Gruppenverteilung der Kinder

3.3 Klinische Untersuchungen

Die zahnmedizinisch klinischen Untersuchungen fanden in den Behandlungsräumen der Poliklinik für Kinderzahnheilkunde unter Nutzung von kindgerecht zahnärztlichen Behandlungseinheiten statt, die den standardisierten Bedingungen eines nach derzeitiger technisch und ergonomisch optimierten Erkenntnisstandes entsprachen. Bettpflichtige oder im Allgemeinzustand stark reduzierte Kinder mit stationärer Betreuung in der Kinderklinik wurden dort unter Nutzung geeigneten zahnärztlichen

Untersuchungsbesteckes in den auf der jeweiligen Station zur Verfügung gestellten Räumlichkeiten untersucht. Dafür standen als diagnostische Hilfsmittel zur Verfügung (Abb. 6):

- ein planer Mundspiegel
- eine zahnärztliche Sonde
- eine geeignete Stirnlampe
- ein steriler Löffelexcavator zur Entnahme der kariösen Zahnhartsubstanz (falls vorhanden).



Abb. 6: Diagnostische Hilfsmittel

3.4 Kariesdiagnostik

Zu Beginn der Studie wurde bei allen teilnehmenden Kindern der Zahnstatus erhoben und in ein Befundschema eingetragen. Die kariesdiagnostischen Auswertungen erfolgten gemäß dem von KLEIN et al. begründeten und von BAUME für eine internationale Normung der Kariesstatistiken weiterentwickelten DMF/dmf-T/t-Index [17].

Dabei errechnet sich der DMF-T-Index für das bleibende Gebiss als Quotient, gebildet aus der Summe der kariös erkrankten (decayed = D), fehlenden (missed = M) und gefüllten bzw. überkronten (filled = F) Zähne und der Gesamtzahl der bewerteten Zähne pro Person. Die Weisheitszähne bleiben unberücksichtigt. Für das Milchgebiss wird entsprechend ein dmf-t-Index gebildet. Häufig findet jedoch nicht der tatsächliche DMF/dmf-T/t-Index Anwendung, sondern der DMF/dmf-T/t-Gesamtwert, der die Summe der D/d-, M/m- und F/f-Einzelwerte darstellt.

Auch in dieser Arbeit wurden die DMF/dmf-T/t-Gesamtwerte berechnet.

3.4.1 Bewertungskriterien

Den ermittelten DMF(T)-/dmf(t)-Werten liegen folgende Bewertungskriterien zugrunde:

Keine Karies

Ein Zahn wurde als kariesfrei gekennzeichnet, wenn keine Anzeichen einer behandelten oder unbehandelten Primär- und/oder Sekundärkaries vorlagen. Defekte, die nicht als Karies diagnostiziert wurden, waren:

- weiße und/oder kreidige Flecken,
- verfärbte oder rauhe Flecken,
- verfärbte Grübchen oder Fissuren des Schmelzes, die die Sondenspitze festhielten, aber keine merkbar erweichte Höhlung, unterminierten Schmelz oder Erweichung der Wände der Fissureneinsenkung aufwiesen,
- versiegelte Zähne ohne Füllung.

Karies (decayed)

Ein Zahn wurde als kariös gewertet, wenn eine Läsion einen sondierbaren weichen Boden, unterminierten Schmelz oder eine erweichte Wand aufwies. An den approximalen Oberflächen musste die Sonde mit Sicherheit in die Läsion eindringen. Bestanden Zweifel, wurde keine Karies diagnostiziert. Nach BAUME ist Karies ein lokalisierter pathologischer Vorgang, der zur Entmineralisierung der Zahnhartsubstanzen führt. Diese Entmineralisation, die im strengen Sinne schon eine Karies darstellt, ist jedoch nur als mikroskopische Läsion erkennbar. Eine eindeutige Diagnose mit üblichen klinischen Methoden ist in diesem Stadium nicht möglich, zumal auch eine Rückbildung - Remineralisation - erfolgen kann. Die sichere klinische Diagnostizierbarkeit beginnt erst, wenn der Kariesprozess das Stadium eines Oberflächendefektes erreicht hat [17].

Als „kariös“ wurde ebenfalls gewertet, wenn

- ein Zahn eine zeitweilige Füllung enthielt und weiterer Behandlung bedurfte,
- eine vollständige Füllung verloren gegangen war,
- eine oder mehrere Flächen gefüllt waren und ein davon getrenntes Gebiet eine kariöse Läsion aufwies,
- sich eine Sekundärkaries am Füllungsrand zeigte.

Fehlender Zahn (missed)

Ein Milchzahn galt dann als fehlend, wenn er nach vorausgegangenem Aufenthalt in der Mundhöhle zum Zeitpunkt der Untersuchung nicht mehr vorhanden war. Zu beachten ist dabei, dass das zahnlose Intervall, der Zeitraum zwischen dem Verlust des Milchzahns und der Eruption seines Nachfolgers, nach KRETER und PANTKE bis zu zwei Monate andauern kann [63].

Permanente mittlere Schneidezähne und erste Molaren wurden ab Vollendung des 8. Lebensjahres, bleibende seitliche Schneidezähne ab Vollendung des 9. Lebensjahres, bleibende Eckzähne, Prämolaren und zweite Molaren ab Vollendung des 13. Lebensjahres als fehlend notiert [121]. Nicht vorhandene Milchsneidezähne galten bis zur Vollendung des fünften Lebensjahres, nicht vorhandene Milcheckzähne und Milchmolaren bis zur Vollendung des neunten Lebensjahres als fehlend.

Gefüllter Zahn (filled)

Ein Zahn wurde als gefüllt beurteilt, wenn er eine aus einem Dauermaterial bestehende Füllung enthielt und keine Anzeichen von getrennter oder Sekundärkaries aufwies. Auch überkronte oder mit konfektionierten Milchzahnkronen versorgte Zähne wurden der Kategorie „gefüllt“ zugeordnet.

Zusätzliche Eintragungen

FV (Fissurenversiegelung): Der betreffende Zahn weist nur eine prophylaktische Versiegelung seiner Kauflächen auf und wird deshalb der Kategorie „Keine Karies“ zugeordnet.

3.5 Mikrobiologische und biochemische Untersuchungen

Bei allen Kindern wurden Speichel-, Plaque-, Stuhlproben und, wenn vorhanden, auch Proben der kariös erweichten Zahnhartsubstanz entnommen und danach auf das Vorkommen von Candida-Hefen untersucht. Zusätzlich wurden mit Hilfe einer Einmalspritze Speichelproben für die Quantifizierung von Mutans Streptokokken und Laktobazillen, zur Messung der Pufferkapazität des Speichels und zur Identifizierung von enthaltenen Keimen der bakteriellen physiologischen und potentiell pathologischen Mundhöhlenflora entnommen. Des Weiteren erfolgte an den vom Kinderarzt entnommenen EDTA- (**E**thylendi**a**mintetra**a**ccetat) Vollblutproben aller 78 Kinder die Bestimmung der Quantität der Candida-Antikörper und der Candida-Antigene im Serum. Die mikrobiologische und biochemische Standarddiagnostik basierte auf Untersuchungen

- des Speichels,
- der Zahnplaque,
- der kariöse erweichten Zahnschubstanz
- und des Stuhls.

3.5.1 Untersuchungen des Speichels

Keime der physiologischen Mundflora

Für die Bestimmung der physiologischen Keime des Speichels wurde dieser mittels sterilem Abstrichtupfer (nerbe plus, Winsen/Luhe, Deutschland) von den Patienten entnommen und unter Verwendung einer sterilen Impfschlinge auf einer Blutplatte (Columbia Agar Base, Oxid mit 5% defibriniertem Hammelblut, Oxoid, Basingstoke, United Kingdom) ausgestrichen (Abb. 7).

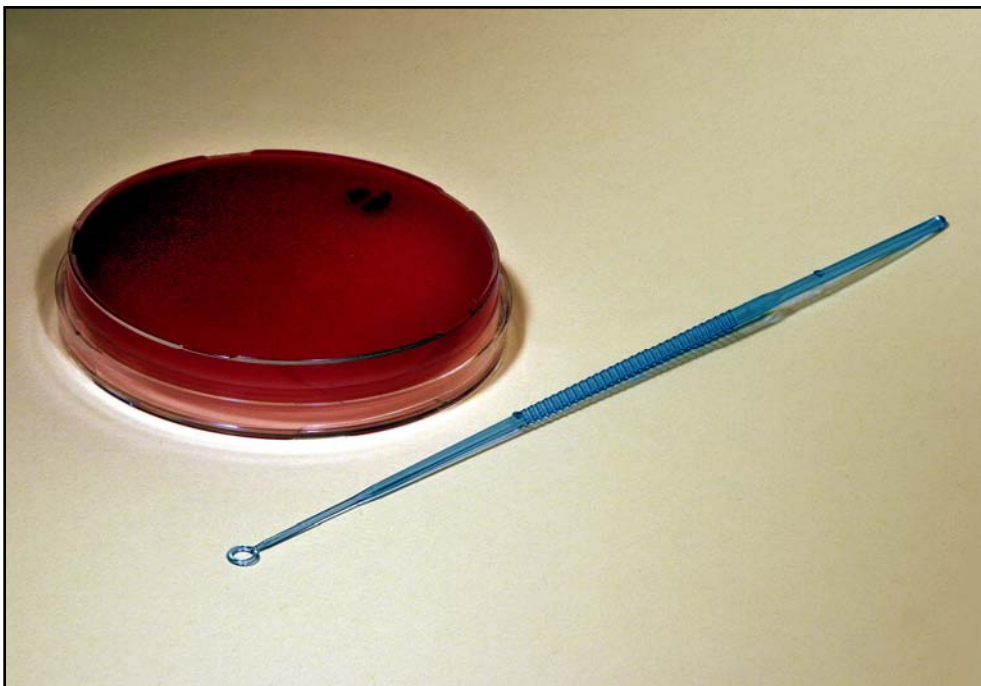


Abb. 7: Blutplatte mit Impfschlinge

Die Platte wurde bei 37°C bebrütet und nach 24 Stunden sowie 48 Stunden beurteilt. Die Keimbestimmung erfolgte nach den Grundprinzipien der bakteriologischen Differenzierung. Sie beschränkte sich auf aerobe und fakultativ anaerobe Bakterien, die sich in der physiologischen Mundflora befinden [21].

Folgende Keime wurden erfaßt:

- vergrünende Streptokokken (*Streptococcus viridans*)
- nicht hämolysierende Streptokokken
- hämolysierende Streptokokken der Gruppe A

- saprophytäre Neisserien
- Corynebakterien (*Corynebacterium* species)
- koagulase negative Staphylokokken
- *Staphylococcus aureus*

Auf eine Spezifizierung der Gattung *Streptococcus viridans* (vergrünende Streptokokken) wurde verzichtet.

Die Mengenangaben der Bakterien erfolgten in den Keimzahlklassen: 0: keine; 1: einzelne [<10 kolonienbildende Einheiten (KBE) = colony forming units (CFU)]; 2: wenig (10^1 - 10^2 CFU); 3: viel (10^2 - 10^3 CFU); 4: massenhaft ($>10^3$ CFU)

Laktobazillen- und Mutans Streptokokkenkeimzahl

Die Laktobazillen- und Mutans Streptokokkenkeimzahlen wurden anhand des CRT®-bacteria-Tests (Ivoclar Vivadent, Schaan, Lichtenstein) ermittelt (Abb. 8).



Abb. 8: CRT®-bacteria-Test-Set

Das Verfahren ist ein einfacher, auf der Dip-Slide-Methode basierender Nachweis von kariogenen Bakterien, welcher als Schnelltest im „chair-side“-Verfahren durchführbar ist. Er ermöglicht die gleichzeitige semiquantitative Bestimmung der

Mutans Streptokokken (MS) und Laktobazillen (LB) im Speichel mit Hilfe zwei selektiver Agars, die sich auf einem Agarträger befinden. Der blaue Mitis-Salivarius-Agar dient hierbei zur Erfassung der Mutans Streptokokken, wobei mehrere Substanzen, wie Saccharose, Bacitracin, ein Polypeptidantibiotikum und verschiedene Salze für die hohe Selektivität des Nachweises sorgen. Letzteres bedingt die Blaufärbung des Agars. Mutans Streptokokken zeigen eine hohe Resistenz gegenüber dieser Kombination, wogegen andere Mikroorganismen am Wachstum gehindert werden. Der helle Nährboden, Rogosaagar, dient der Laktobazillenbewertung.

Zur Durchführung des Tests wurden zunächst die Schutzfolien der beiden Agarflächen entfernt und diese dann vorsichtig mit Speichel aus der Einmalspritze benetzt und abschließend im entsprechenden Röhrchen mit einer Natriumhydrogencarbonat- (NaHCO_3 -) Tablette bei 37°C für 2 Tage inkubiert. Die NaHCO_3 -Tablette, die auf den Boden des Probenbehälters gegeben wird, setzt in Kontakt mit Feuchtigkeit Kohlendioxid (CO_2) frei, welches eine günstige Atmosphäre für das Bakterienwachstum schafft. Verbleibt der Test länger als zwei Tage im Brutschrank, z. B. wegen des Wochenendes, hat dies keinen Einfluss auf die Anzahl der Bakterienkolonien, vielmehr erscheinen sie nur leicht vergrößert. Hier korreliert die Anzahl der Bakterien pro ml Speichel mit der Koloniedichte auf den Agarflächen. Der Vergleich des bewachsenen Agars mit den dafür vorgegebenen Auswertungsmustern („model chart“) erlaubt die Bewertung des Kariesrisikos. Folgende Unterscheidung ist von klinischer Relevanz (Abb. 9):

- niedriges Kariesrisiko: $< 10^5$ CFU/ml saliva (KBE/ml Speichel für MS und LB)
- hohes Kariesrisiko: $\geq 10^5$ CFU/ml saliva (KBE/ml Speichel für MS und LB)

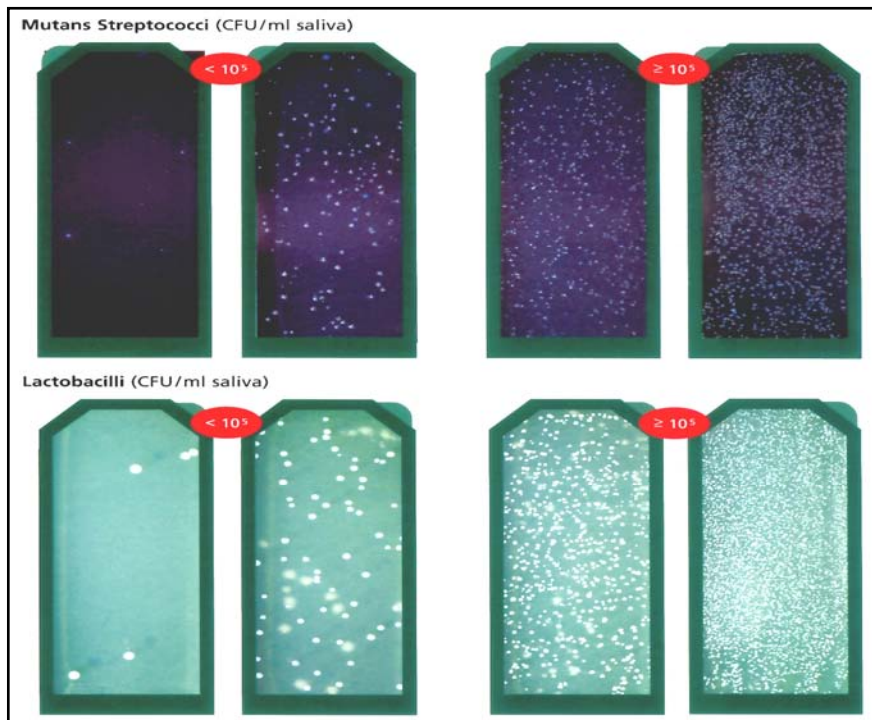


Abb. 9: „model chart“ für MS und LB (CRT®-bacteria-Test)

Die Mutans Streptokokken zeichnen sich als blaue Kolonien auf dem Mitis-Salivarius-Agar ab, während Laktobazillen als weiße Kolonien auf dem transparenten Rogosaagar wachsen.

Candida-Keimzahl

Zur primären Anzucht der Candidakeime wurden die mittels eines sterilen Abstrichtupfers (nerbe plus, Winsen/Luhe, Deutschland) entnommenen Speichelproben auf das bewährte klassische Medium Sabouraud-4%-Glukose-Agar ausgestrichen und 48 Stunden lang bei 37°C inkubiert. Einzelkolonien wurden für die spätere PCR-Typisierung bei -80°C in der Bacto™Brain-Heart-Infusion (Becton Dickinson GmbH, Heidelberg, Deutschland) und 20% (Vol.) Glycerin aufbewahrt.

Zunächst diente der Keimschlauchtest („germ tube test“) als „Schnelltest“ zur Differenzierung der Candida-Arten. Keimschläuche sind schlanke, zylindrische Fäden, die ohne Verengung von der Pilzbasis wachsen. Sie stellen eine Übergangsphase zwischen der Hefe- und Myzelform dar. Die Bildung wird als diagnostisches Kriterium von *C. albicans* genutzt. *C. albicans* und *C. dubliniensis* sind als einzige Spezies in der Lage, sehr schnell Keimschläuche zu bilden. Durch die Fähigkeit zur Ausbildung von Keimschläuchen werden die Adhärenz und damit

die Virulenz der Spezies erhöht. Zur Herstellung der benötigten Hefesuspension wurden 500 µl Humanserum mit 1-2 Kolonien der Candida (-Reinkultur) beimpft und für 3 Stunden bei 37 °C inkubiert. Anschließend wurde 30 µl der Suspension auf ein Deckglas geschichtet und mikroskopiert (Abb. 10a - 10h).

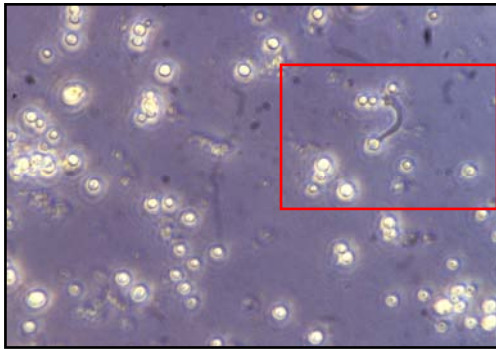


Abb. 10a: *C. albicans* (Vergr.: 500x)



Abb. 10b: Ausschnitt aus 11a

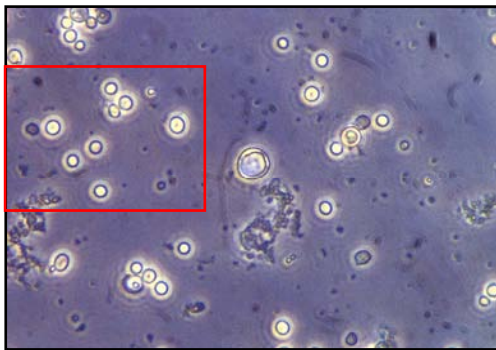


Abb. 10c: *C. dubliniensis* (Vergr.: 500x)



Abb. 10d: Ausschnitt aus 11c

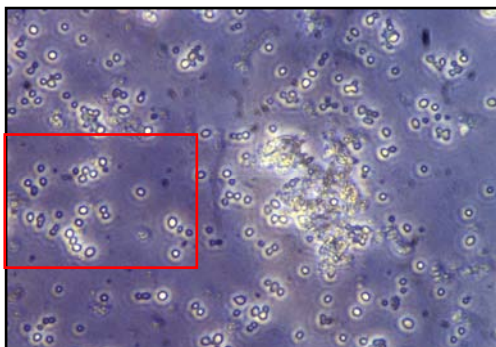


Abb. 10e: *C. glabrata* (Vergr.: 500x)

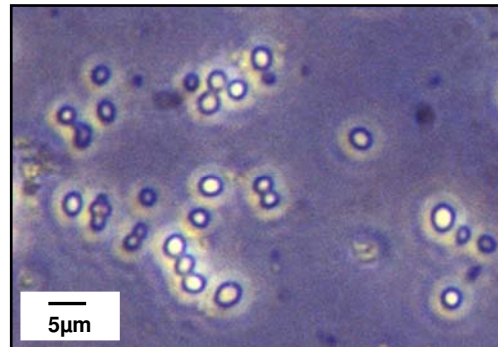


Abb. 10f: Ausschnitt aus 11e

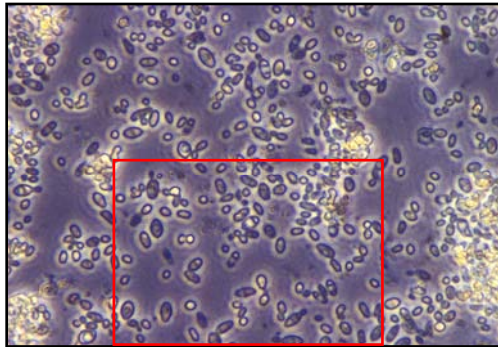
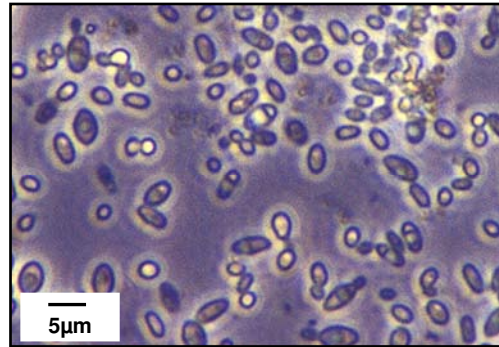
Abb. 10g: *C. krusei* (Vergr.: 500x)

Abb. 10h: Ausschnitt aus 11g

Die Proben wurden zusätzlich auf CHROMagar™ (Becton Dickinson GmbH, Heidelberg, Deutschland), ein Nährmedium, das eine Differenzierung unterschiedlicher Candidaarten gestattet, ausgestrichen (Abb. 11). Aufgrund ihrer spezifischen Pigmentbildung auf den CHROMagar™-Platten ließen sich die verschiedenartigen Candida Spezies unterscheiden. CHROMagar™ setzt sich aus Pepton (10 g/l), Glukose (20 g/l), Agar (15 g/l), Chloramphenicol (0,5 g/l) und einem chromogenem Mix (2 g/l) zusammen (pH-Wert=6,1).

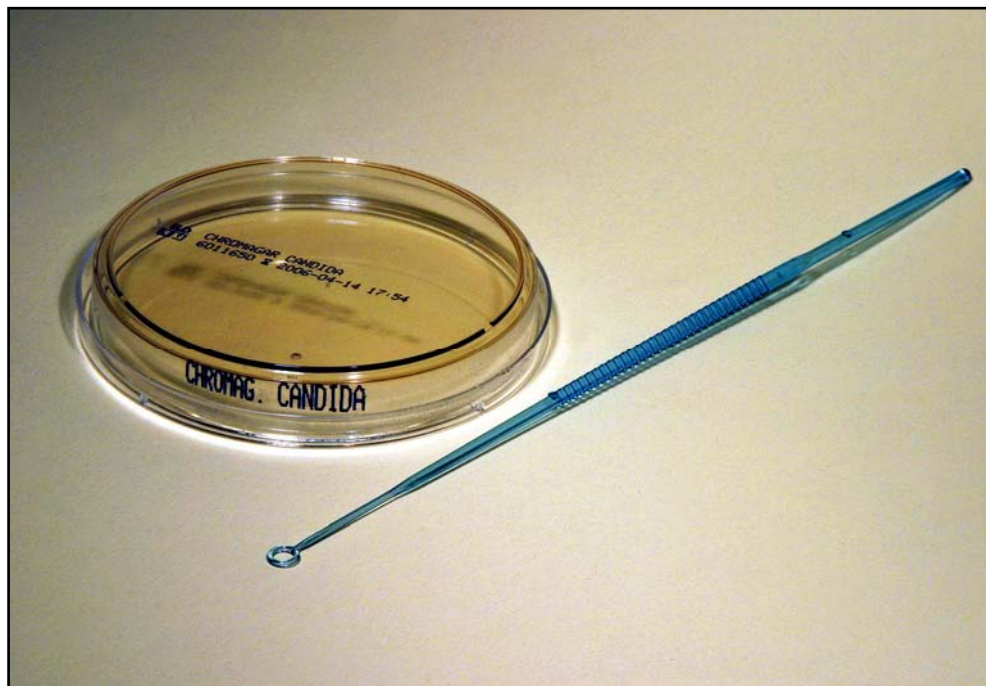


Abb. 11: CHROMagar™ mit Ausstrichöse

Die Hefen wachsen durch die Reaktion von speziesspezifischen Enzymen mit einem Chrom-Substrat, welche die unterschiedliche Farbgebung ausmacht. Nach

48-stündiger Inkubation bei 37°C wurden die Kolonien je nach Morphologie und Pigmentierung nach ODDS et al. beurteilt [83]. *C. albicans* färbt sich grün, *C. glabrata* violett und *C. krusei* rosa mit einem spezifisch blassen Vorhof (Abb. 12).



Abb. 12: Differenzierung der Candida-Arten auf CHROMagar™-Platte:
C. albicans: = grün, *C. glabrata* = violett und *C. krusei* = blassrosa

Die Mengenangabe der Pilze erfolgte in folgenden Keimzahlklassen: 0: keine; 1: einzelne [<10 kolonienbildende Einheiten (KBE) = colony forming units (CFU)]; 2: wenig ($10^1 - 10^2$ CFU); 3: viel ($10^2 - 10^3$ CFU); 4: massenhaft ($>10^3$ CFU) (Abb. 13a - 13d).



Abb. 13a-13d: Candida-Keimzahlklassen (v. l. n. r.)

Abb. 13a:	Klasse 1	(<10 CFU)	Abb. 13b:	Klasse 2	($10^1 - 10^2$ CFU)
Abb. 13c:	Klasse 3	($10^2 - 10^3$ CFU)	Abb. 13d:	Klasse 4	($>10^3$ CFU)

Die nachfolgenden zwei Abbildungen (Abb. 14a und 14b) stellen, im direkten Vergleich die *Candida* Spezies dar, die nach Ausstrich auf CHROMagar™ eine ähnliche Farbreaktion zeigten.



Abb. 14a: CHROMagar™-Platte:
links: *C. dubliniensis*; rechts: *C. albicans*



Abb. 14b: CHROMagar™-Platte:
links: *C. glabrata*; rechts: *C. krusei*

Um die hierbei entstandene Unsicherheit zu eliminieren und die Diagnose zu sichern wurde zusätzlich das AUXACOLOR™2-Test-System (Bio-Rad, Marnes-la-Coquette, France) durchgeführt (Abb. 15).



Abb. 15: AUXACOLOR™2-Test-System-Kit

Das Test-Kit besteht aus 20 einzeln verpackten Mikrotiterplatten mit je 16 Vertiefungen, 20 Klebestreifen, 20 gebrauchsfertigen Suspensionsmedien, einer

Auswertungstabelle und einer Arbeitsanleitung. Dieses biochemische Keimidentifizierungssystem beruht auf dem Prinzip der Zuckerassimilierung unterschiedlicher Hefen. Die Assimilation ist die Fähigkeit eines Organismus bestimmte Komponenten als einzige Energiequelle für das Wachstum in Anwesenheit von Sauerstoff zu nutzen. Ein Hefewachstum wird dabei durch den Farbumschlag eines pH-Indikators angezeigt. Das AUXACOLOR™2-Test-System nutzt folgende Substrate als Kohlenstoffquelle: Glucose, Maltose, Saccharose, Galactose, Lactose, Raffinose, Inositol, Cellobiose, Trehalose, Adonitol, Melezitose, Xylose und Arabinose. Die Zucker liegen dehydriert in den jeweiligen Vertiefungen der Mikrotiterplatte mit einer Nährbodengrundlage und einem pH-Indikator (Bromkresolpurpur) vor. Nach ihrer Rehydratisierung mit dem Inokulum (Hefesuspension), stellt sich ein Hefewachstum sowohl durch den Farbumschlag des Indikators von blau nach gelb als auch durch das Auftreten einer Trübung in der Vertiefung dar. Die Herstellung des Inokulums erfolgt durch Beimpfung des mitgelieferten Suspensionmediums mit den bereits vorher auf Sabouraud-4%-Glukose-Agar hergestellten (1-5) Kolonien einer Reinkultur, um eine dem Trübungsstandard (1,5 McFarland) entsprechende Dichte zu erhalten. Anschließend wird die Suspension mittels einem Vortex homogenisiert, 100 µl des Inokulums mit einer Pipette entnommen, in jede einzelne Vertiefung der Mikotiterplatte gegeben und letztendlich mit dem Klebestreifen verschlossen. Nach 48 Stunden Inkubation bei 37 °C können die Farbreaktionen gemäß Herstellerangaben abgelesen, kodiert und notiert werden (Abb. 16a und 16b). Die Auswertung des nun ermittelten Zahlenprofils erfolgt anhand des dazugehörigen Codesystems.



Abb. 16a: AUXACOLOR™2-Test:
Identifizierung als *C. albicans*



Abb. 16b: AUXACOLOR™2-Test:
Identifizierung als *C. dubliniensis*

Ermittlung der Pufferkapazität

Die Pufferkapazität des Speichels wurde mittels des CRT®-buffer-Tests (Ivoclar Vivadent, Schaan, Lichtenstein) bestimmt (Abb. 17).



Abb. 17: CRT®-buffer-Test-Set

Hierbei wird mit Hilfe eines Teststreifens, der mit einem speziellen Indikatorsystem versehen ist, die Pufferkapazität des Speichels durch Farbveränderung angezeigt. Aus der Einmalspritze wird der Speichel mit einer Pipette entnommen und das gesamte gelbe Testfeld des CRT®-buffer-Teststreifens benetzt. Nach einer Einwirkzeit von 5 Minuten kann die Pufferkapazität des Speichels durch Vergleich der Teststreifenflächenfarbe mit den Farbmustern der beiliegenden „model chart“ bestimmt werden (Abb. 18):

- blau pH: >6 = high (Klasse 1)
- gelbbraun pH: 4,5–5,5 = medium (Klasse 2)
- gelborange pH: <4 = low (Klasse 3)

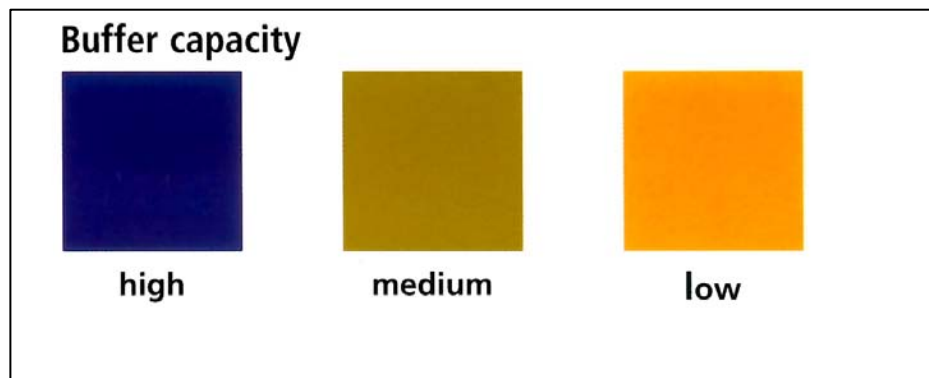


Abb. 18: „model chart“ zur Bestimmung des Speichel-pH-Wertes

3.5.2 Untersuchungen der Plaque

Plaqueproben wurden von kariesfreien Zahnoberflächen mit Hilfe eines sterilen Löffelexcavators entnommen, anschließend auf einen sterilen Abstrichtupfer aufgebracht und auf Blut- sowie Sabouraud-4%-Glukose-Agar ausplattiert. Die Keimdifferenzierung erfolgte ebenfalls mit Hilfe des Keimschlauchtests und der Impfung der CHROMagar™-Platte mit den zuvor hergestellten Kolonien auf Sabouraud-4%-Glukose-Agar. Zusätzlich wurde auch hier das biochemische AUXACOLOR™2-Test-System zur Keimidentifizierung verwendet. Inkubation und Auswertung erfolgten analog der Speichelproben.

3.5.3 Untersuchungen der kariösen Zahnschubstanz

Bei den Patienten mit kariösen Gebissen wurde zusätzlich kariöse Zahnhartsubstanz aus erkrankten Arealen der Zähne mit einem sterilen Löffelexcavator entnommen und ebenso auf Blut- und Sabouraud-4%-Glukose-Agar ausplattiert. Die vorherrschenden Candida-Arten wurden mittels Keimschlauchtest und CHROMagar™ differenziert und abschließend durch das AUXACOLOR™2-Test-System identifiziert. Auch hier erfolgten Inkubation und Auswertung entsprechend der Speichel- und Plaqueproben.

3.5.4 Untersuchungen des Stuhls

Die Stuhlproben der Kinder wurden durch deren Eltern in dafür vorgesehenen Stuhlröhrchen transportiert. Zunächst wurde eine quantitative Pilzbestimmung durchgeführt. Dazu wurde die Stuhlprobe mit einem Emulgator, in diesem Falle mit 100 µl Triton®-x-100 (SIGMA-ALDRICH CHEMIE GmbH, Steinheim, Deutschland), versehen und homogenisiert. Vom Überstand dieser Lösung wurden 50 µl zunächst auf Sabouraud-4%-Glukose-Agar ausgestrichen, wie die Speichel-, Plaque- und Kariesproben inkubiert, weiterverarbeitet und ausgewertet. CHROMagar™, Keimschlauchtest und AUXACOLOR™2 dienten auch hier zur Keimdifferenzierung und -identifizierung.

3.6 Immunologische Untersuchungen

Die immunologische Diagnostik erfolgte am Institut für Medizinische Mikrobiologie der Justus-Liebig-Universität Gießen. Dazu wurde das von den Kinderärzten zur Verfügung gestellte EDTA-Vollblut noch am Entnahme-/ Aufnahmetag zentrifugiert (Biofuge® Pico, Heraeus Instruments, Hanau, Deutschland), das im Überstand befindliche Serum vorsichtig abpipettiert und bei -80 °C eingefroren. Um sicher zu gehen, dass sich keine restlichen Zellen im Serum befinden, wurde die Prozedur ein zweites Mal wiederholt.

Die Standarddiagnostik der immunologischen (Serum-) Untersuchungen gliederte sich in folgende Abschnitte:

- Candida-Mannan-Antigen-Nachweis (Quantitatives Verfahren)
- Candida-anti-Mannan-Antikörper-Nachweis (Quantitatives Verfahren)

3.6.1 Candida-Mannan-Antigen-Nachweis

Makromolekulare Antigene von Pilzen können mit Hilfe immunologischer Methoden während der Infektion aus Körperflüssigkeiten nachgewiesen werden. In jüngerer Zeit wurde der Nachweis von Mannan, ein an der Hefezellwand nicht-kovalent

gebundenes Polysaccharid und Candida-Antigen, bei der invasiven Candidose durch die Einführung eines sensitiven kommerziell erhältlichen Testformats entwickelt [103]. Der monoklonale Antikörper EB-CA1 erkennt Mannanepitope (Antigenmolekülabschnitte) verschiedener humanpathogener Candida Spezies. Dieser Antikörper wird sowohl für die Latex-Agglutination (Pastorex-Candida, Bio-Rad, Marnes-la-Coquette, France) als auch für den Sandwich- (Enzym Linked Immuno Sorbent Assay) ELISA (PLATELIA™-CANDIDA Ag, Bio-Rad Marnes-la-Coquette, France) kommerziell eingesetzt. Bei einer vergleichbaren Spezifität beider Testsysteme zeichnet sich letzterer durch eine deutlich verbesserte Sensitivität aus. Eine Kombination des Platelia-Candida-Antigentests mit dem Antikörpernachweis (PLATELIA™-CANDIDA Ab/Ac/Ak, Bio-Rad, Marnes-la-Coquette, France) scheint die Sensitivität signifikant zu verbessern [100,102,126]. Im epidemiologischen Sprachgebrauch wird mit Sensitivität die Fähigkeit eines Screening-Tests beschrieben, Personen, die Träger einer bestimmten Erkrankung sind, korrekt zu identifizieren. Im Gegenzug dazu beschreibt die Spezifität eines Testverfahrens die Fähigkeit, Gesunde als solche zu erkennen.

Somit wurde die Bestimmung der Quantität von Candida-Antigenen im Serum mittels des Sandwich-ELISA-Tests PLATELIA™-CANDIDA Ag (Bio-Rad, Marnes-la-Coquette, France) vorgenommen (Abb. 19).



Abb. 19: PLATELIA™-CANDIDA Ag -Test-Kit

Es handelt sich dabei um einen Enzymimmuno-Assay-Test, welcher auf dem bereits oben erwähnten monoklonalen Ratten-Antikörper EB-CA1 basiert, der gegen das Candida α 1-5 Oligomannoside gerichtet ist. Er wird zur Sensibilisierung der Vertiefungen der hier benutzten Mikrotiterplatte verwendet, um dann das Mannan-Antigen in der Probe zu binden. Der Nachweis gelingt, weil der monoklonale Antikörper mit Peroxidase markiert wurde.

3.6.1.1 Testdurchführung

Die folgenden Reagenzien wurden laut Herstellerangaben verwendet:

- **1 x Mikrotiterplatte (R1):** 12 Streifen mit jeweils 8 Vertiefungen, sensibilisiert mit EBCA-1-Anti-Mannan-Antikörper
- **100 ml konzentrierte Waschlösung (10fach) (R2):** TRIS-NaCl-Puffer (pH 7,4), 1% Tween® 20; Konservierungsmittel: 0,01% Thimerosal
- **10 ml negatives Kontrollserum (R3):** Humanes Kontrollserum ohne Mannan; negativ getestet auf Anti-HIV1- (Humane Immundefizienz Virus) und Anti-HIV2-Antikörper, HBs-Antigen (Hepatitis B) und Anti-HCV- (Hepatitis C Virus) Antikörper; Konservierungsmittel: <0,1% Natriumazid
- **2 x 2 ml Standardserum (Calibrator) (R4):** Humanserum mit 2,0 ng/ml Mannan; verwendet zur Vorbereitung der 1,0-, 0,5- und 0,25 ng/ml-Bereichspunkte für den quantitativen Test; negativ getestet auf Anti-HIV1- und Anti-HIV2-Antikörper, HBs-Antigen und Anti-HCV-Antikörper; Konservierungsmittel: <0,1% Natriumazid
- **2 ml positives Kontrollserum (R5):** Humanserum mit 0,5 - 1,5 ng Mannan; negativ getestet auf Anti-HIV1- und Anti-HIV2-Antikörper, HBs-Antigen und Anti-HCV-Antikörper; Konservierungsmittel: <0,1% Natriumazid
- **8 ml Konjugat (gebrauchsfertig) (R6):** Mit Peroxidase markierter monoklonaler anti-Mannan-Antikörper; Konservierungsmittel: 0,01% Thimerosal

- **10,5 ml Serumbehandlungslösung (gebrauchsfertig) (R7):** Säurelösung; ohne Konservierungsmittel
- **60 ml TMB-Substratpuffer (gebrauchsfertig) (R8):** Zitronensäure und Natriumacetatlösung pH 5,2 mit 0,009% Wasserstoff (H_2O_2) und 4% Dimethylsulfoxid (DMSO)
- **1 ml Chromogen TMB-Lösung (konzentriert) (R9):** 90% DMSO-Lösung mit 0,6% Tetramethylbenzidin (TMB)
- **12 ml Stopplösung (gebrauchsfertig) (R10):** 1,5 N Schwefelsäure

Zusätzlich wurden nachfolgende Materialien zur Testdurchführung benötigt:

- Vortex-Mischer
- Tischzentrifuge für konische 1,5 ml-Eppendorf-Röhrchen; geeignet für 10.000 g
- Mikrotiterplatten-Photometer ausgestattet mit 450/620-Filtern
- Mikrotiterplatteninkubator mit Temperaturregelung; auf 37°C eingestellt
- Multipipetten von 50 µl, 100 µl, 300 µl und 1000 µl
- Konische 1,5 ml-Eppendorf-Röhrchen; fest verschließbar und bis 100°C hitzebeständig

Vor Testdurchführung wurden zunächst die Reagenzien R2, R8 und R9 laut Hersteller hergerichtet. Dafür musste, um eine gebrauchsfertige Waschlösung herstellen zu können (mindestens 80 ml pro Riegel mit 8 Vertiefungen), die Lösung (R2) im Verhältnis 1:10 mit sterilem destilliertem Wasser verdünnt werden. Des Weiteren erfolgte eine Verdünnung der konzentrierten Chromogen-Lösung (R9) in Substratpuffer (R8) im Verhältnis 1:50 (z.B. 200 µl der Reagenz R9 + 10 ml Reagenz R8). Für einen Riegel mit 8 Vertiefungen der Mikrotiterplatte benötigte man 4 ml der hergestellten Entwicklungslösung. Außerdem wurden sowohl das positive als auch negative Kontrollserum (+KS, -KS) sowie die 2,0-, 1,0-, 0,5- und 0,25

ng/ml-Standardseren gleichzeitig mit den Patientenproben vor Durchführung der immunenzymatischen Reaktion behandelt. Zunächst wurde 300 µl Testserum in ein 1,5 ml-Eppendorf-Röhrchen (SARSTEDT, Niembrecht, Deutschland) gegeben, mit 100 µl Behandlungslösung (R7) versetzt und durch starkes Schütteln auf dem Vortex (Vortex-Genie®-2, Scientific Industries, BOHEMIA, New York, USA) homogenisiert. Nachdem das fest verschlossene Röhrchen 3 Minuten lang in einem 100°C heißem Wasserbad lag, konnte es danach für 10 Minuten bei 10.000 g zentrifugiert (Biofuge® Pico, Heraeus Instruments, Hanau, Deutschland) werden. Der so entstandene Überstand wurde schließlich für den Nachweis des Mannan-Antigens verwendet. Das Erhitzen des Serums diente zum Trennen der Immunkomplexe und das Zentrifugieren zum Ausfällen von Serumproteinen, die während der nachfolgenden immunenzymatischen Reaktion interferieren könnten.

Zu Beginn der immunenzymatischen Reaktion wurden jeweils 50 µl Konjugat (R6) und 50 µl des behandelten Serumüberstandes der Patienten-, Kontroll- oder Standardseren (0,25, 0,5, 1,0 und 2,0 ng/ml) in jeweils eine Vertiefung pipettiert. Im Anschluss erfolgte das wasserdichte Abkleben der Mikrotiterplatte (mit Klebefolie) und die 90minütige Inkubation bei 37°C im Mikrotiterplatten-Inkubator (Sanofi Diagnostics Pasteur, Marnes-la-Coquette, France). Liegt Mannan in der Probe vor, bildet sich ein Komplex aus monoklonalen Antikörpern, Mannan und monoklonalen Mannan/Peroxidase-Antikörpern. Nach der Inkubation wurde die Mikrotiterplatte ausgewaschen (R2) und 200 µl der hergestellten Entwicklungslösung (R9 im Verhältnis 1:50 in R8) lichtgeschützt in jede Vertiefung pipettiert und bei Raumtemperatur (+18-30°C) 30 Minuten stehen gelassen. Anschließend wurde die in den Vertiefungen fortschreitende enzymatische Reaktion durch Zugabe von 100µl Stopplösung (R10) angehalten und die optische Dichte bei 450/620 nm mit einem Mikroplatten-Photometer (Sanofi Diagnostics Pasteur, Marnes-la-Coquette, France) abgelesen.

Die Standardkurve der Standardseren, welche zur Ermittlung der Mannan-Konzentration im quantitativen Verfahren, ausgedrückt in ng Mannan pro ml Serum (ng/ml), dient, wird in Abbildung 20 dargestellt. Sie wird durch die vier Standardseren mit einer Mannan-Konzentration (C) von 2, 1, 0,5 und 0,25 ng/ml und bei einer optischen Dichte (OD) von 450/620 nm ermittelt. Um eine maximale Präzision zu erreichen, wird eine S-Kurve mit Extrapolation durch Auftragen der

Konzentration in ng/ml auf der x-Achse (logarithmische Skala) und der optischen Dichte auf der y-Achse (lineare Skala) erstellt. Folgende Kriterien zur Durchführung eines gültigen Tests für die Patientenserum der Gruppen I bis III müssen erfüllt sein:

Optische Dichte: $0,300 < \text{OD des } 0,5 \text{ ng/ml-Standards („cut-off Serum“)} < 1,1$

Verhältnis:

- $\text{OD (2,0 ng/ml-Standard)} / \text{OD (0,5 ng/ml-Standard)} > 2,1$
- $\text{OD (1,0 ng/ml-Standard)} / \text{OD (0,5 ng/ml-Standard)} > 1,25$
- $\text{OD (0,25 ng/ml-Standard)} / \text{OD (0,5 ng/ml-Standard)} < 0,85$
- $\text{OD (-KS ng/ml)} / \text{OD (0,5 ng/ml-Standard)} \leq 0,80$

Mannan-Konzentration: das negative Kontrollserum (-KS) wird wie oben erwähnt im Verhältnis zum 0,5 ng/ml- Standard gesehen und das positive Kontrollserum sollte eine Konzentration von $\geq 0,5 \text{ ng/ml}$ betragen. Für die Erstellung der Standardkurve werden jedoch beide Seren laut Hersteller nicht berücksichtigt.

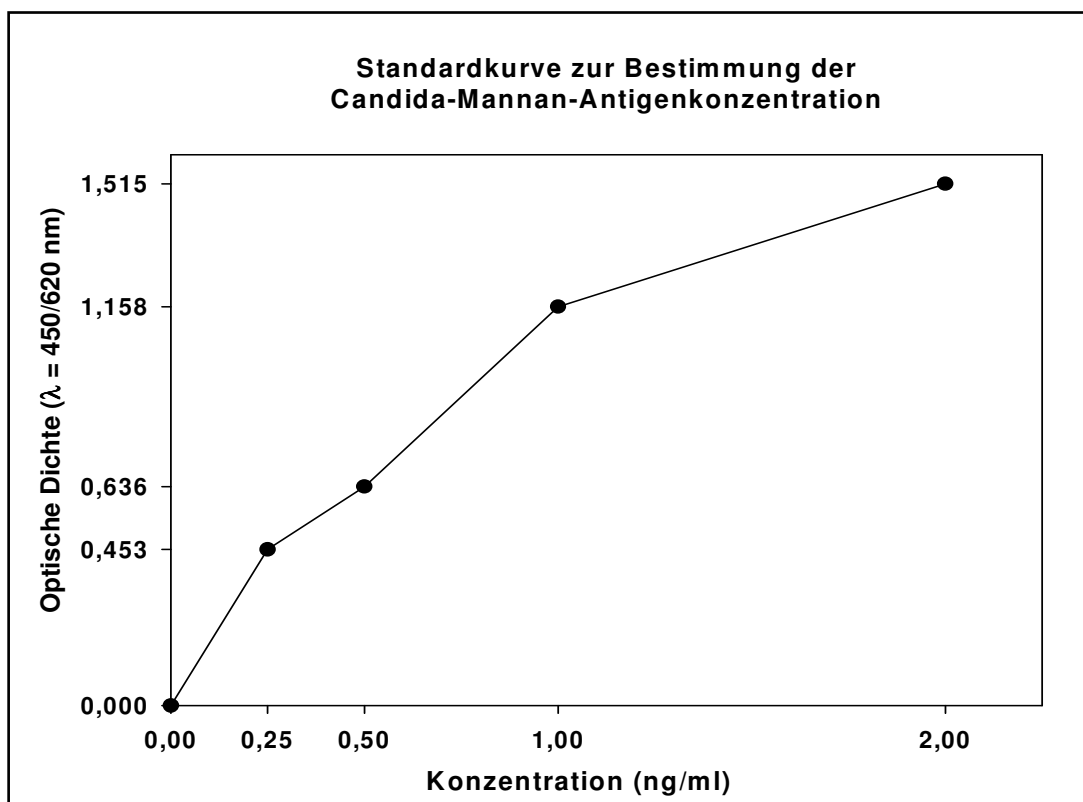


Abb. 20: Standardkurve zur Bestimmung der Mannan-Konzentration

Die Kriterien für die optische Dichte des „**cut-off-Serums**“ mit 0,636 größer als 0,300 und kleiner als 1,1 sowie die OD des positiven Kontrollserums mit 1,124 größer als 0,636 („**cut-off-Serum**“) sind somit erfüllt, ebenso die optische Dichte der Verhältnisse der Standardseren mit folgenden Werten:

- $OD (1,515 / 0,636) = 2,382 \rightarrow (> 2,10)$
- $OD (1,158 / 0,636) = 1,821 \rightarrow (> 1,25)$
- $OD (0,453 / 0,636) = 0,713 \rightarrow (< 0,85)$
- $OD (0,123 / 0,636) = 0,194 \rightarrow (\leq 0,80)$

3.6.2 Candida-anti-Mannan-Antikörper-Nachweis

Wichtige Informationen zur Diagnostik einer invasiven Pilzinfektion kann der Nachweis spezifischer Antikörperreaktionen beim Wirt liefern. Allerdings sind bislang kommerziell erhältliche Antikörperrnachweisverfahren wenig standardisiert. Sie beruhen auf Lipid-, Polysaccharid- und Proteingemischen, gewonnen aus zytoplasmatischen, metabolischen, konidialen oder myzelialen Fraktionen der Pilze. Diese wenig definierten Antigenextrakte verursachen verschiedenste Probleme - wie zum Beispiel unerwünschte Kreuzreaktionen, erhebliche Schwankungen in der Antigenzusammensetzung unterschiedlicher Testchargen und den Nachweis von Antikörpern, die aufgrund der Exposition, nicht aber aufgrund einer Infektion gebildet werden. Derartige Nachteile und das ohnehin reduzierte Antikörperbildungsvermögen hochgradig immunsupprimierter Patienten haben bislang den breiten Einsatz solcher Systeme sowohl bei der invasiven Aspergillose als auch bei der invasiven Candidiasis verhindert. Der gelungene Nachweis von Mannan, ein an der Hefezellwand nicht-kovalent gebundenes, stark immunogenes Polysaccharid und Candida-Antigen, gilt als sicherer Marker für eine Candidose [50]. Mit dem Candida-Antikörperrnachweis (PLATELIA™-CANDIDA Ab/Ac/Ak, Bio-Rad, Marnes-la-Coquette, France), ein Zwei-Phasen-Enzymimmunoassay-Test gelingt der quantitative Nachweis von anti-Mannan-Antikörpern in Humanserum durch Bildung eines Immunkomplexes aus Mannan, humanen anti-Mannan-Antikörpern und mit Peroxidase markierten anti-Human-Ig-Ziegenantikörpern.

3.6.2.1 Testdurchführung

Die folgenden Reagenzien wurden laut Herstellerangaben verwendet:

- **1 x Mikrotiterplatte (R1):** 12 Riegel mit jeweils 8 Vertiefungen, sensibilisiert mit gereinigtem Mannan, hergestellt aus *Candida albicans*
- **100 ml konzentrierte Waschlösung (10fach) (R2):** TRIS-NaCl-Puffer (pH 7,4), 1% Tween® 20; Konservierungsmittel: 0,01% Thimerosal
- **0,250 ml negatives Kontrollserum (R3):** Humanserum, negativ für Anti-Mannan-Antikörper und negativ getestet auf Anti-HIV1- und Anti-HIV2-Antikörper, HBs-Antigen und Anti-HCV-Antikörper; Konservierungsmittel: <0,1% Natriumazid
- **0,250 ml Standardserum (Calibrator) (R4):** Lösung mit humanen anti-Mannan-Antikörpern; Ausgangslösung zur Erstellung der Standards der 2,5-, 5-, 10 und 20 AU/ml- anti-Mannan-Antikörperkonzentration; negativ getestet auf Anti-HIV1- und Anti-HIV2-Antikörper, HBs-Antigen und Anti-HCV-Antikörper; Konservierungsmittel: <0,1% Natriumazid
- **0,250 ml positives Kontrollserum (R5):** Humanserum mit anti-Mannan-Antikörpern; negativ getestet auf Anti-HIV1- und Anti-HIV2-Antikörper, HBs-Antigen und Anti-HCV-Antikörper; Konservierungsmittel: <0,1% Natriumazid
- **12 ml Konjugat (gebrauchsfertig) (R6):** Mit Peroxidase markierter anti-Human-Ig-Ziegenantikörper; Konservierungsmittel: 0,01% Thimerosal
- **2 x 100 ml Probenverdünnungsmittel (gebrauchsfertig) (R7):** Konservierungsmittel: 0,01% Thimerosal
- **60 ml TMB-Substratpuffer (gebrauchsfertig) (R8):** Zitronensäure und Natriumacetatlösung pH 5,2 mit 0,009% Wasserstoff (H_2O_2) und 4% Dimethylsulfoxid (DMSO)
- **1 ml Chromogen TMB-Lösung (konzentriert) (R9):** 90% DMSO-Lösung mit 0,6% Tetramethylbenzidin (TMB)
- **12 ml Stopplösung (gebrauchsfertig) (R10):** 1,5 N Schwefelsäure

Zusätzlich wurden nachfolgende Materialien zur Testdurchführung benötigt:

- Vortex-Mischer
- Tischzentrifuge für konische 1,5 ml-Eppendorf-Röhrchen; geeignet für 10.000 g
- Mikrotiterplatten-Photometer ausgestattet mit 450/620-Filtern
- Mikrotiterplatteninkubator mit Temperaturregelung; auf 37°C eingestellt
- Multipipetten zum Pipettieren von 2 µl, 100 µl, 400 µl
- Konische 1,5 ml-Eppendorf-Röhrchen zur Verdünnung von Serumproben

Vor Testdurchführung wurden zunächst die Reagenzien R2, R8 und R9 hergerichtet. Dafür musste, um eine gebrauchsfertige Waschlösung herstellen zu können (mindestens 80 ml pro Riegel mit 8 Vertiefungen), die Lösung (R2) im Verhältnis 1:10 mit sterilem destilliertem Wasser verdünnt werden. Des Weiteren erfolgte eine Verdünnung der konzentrierten Chromogen-Lösung (R9) in Substratpuffer (R8) im Verhältnis 1:50 (z.B. 200 µl der Reagenz R9 + 10 ml Reagenz R8). Für einen Riegel mit 8 Vertiefungen der Mikrotiterplatte benötigte man 4 ml der hergestellten Entwicklungslösung. Außerdem wurden sowohl das positive als auch negative Kontrollserum (+KS, -KS) sowie die 20-, 10-, 5- und 2,5 AU/ml-Standardseren gleichzeitig mit den Patientenproben vor Durchführung der immunenzymatischen Reaktion behandelt. Hierbei wurden Test- und Standardseren in ein 1,5 ml-Eppendorf-Röhrchen (SARSTEDT, Niembrecht, Deutschland) gegeben und mit dem Probenverdünnungsmittel (R7) laut Herstellerangaben versetzt.

Zu Beginn der immunenzymatischen Reaktion wurden jeweils 100 µl Patienten-, Kontroll- und Standardserum (2,5-, 5-, 10- und 20 AU/ml) in jeweils eine Vertiefung der Mikrotiterplatte pipettiert, welche mit gereinigtem Mannan aus *C. albicans* sensibilisiert war. Im Anschluss erfolgte das wasserdichte Abkleben der Platte (mit Klebefolie) und die 60minütige Inkubation bei 37°C im Mikrotiterplatten-Trockeninkubator (Sanofi Diagnostics Pasteur, Marnes-la-Coquette, France). Danach wurde die Mikrotiterplatte ausgewaschen (R2), 100 µl des Konjugats (R6 =

mit Peroxidase markierter anti-Human-Ig-Ziegenantikörper) in alle Vertiefungen pipettiert, die Platte erneut mit Klebefolie verschlossen und 60 Minuten lang bei 37°C im Mikrotiterplatten-Trockeninkubator belassen. Liegen Antikörper in der Probe (Patientens Serum) vor, bildet sich ein Komplex aus Mannan, humanen anti-Mannan-Antikörpern und Peroxidase-markierten anti-Human-Ig-Ziegenantikörpern. Da es sich hierbei um einen sogenannten Zwei-Phasen-Enzymimmunoassay-Test handelt, erfolgt nun nach der ersten enzymatischen Reaktion die zweite Phase. Nach der letzten Inkubation wurde die Mikrotiterplatte erneut ausgewaschen (R2) und 200 µl der hergestellten Entwicklungslösung (R9 im Verhältnis 1:50 in R8 verdünnt) lichtgeschützt in jede Vertiefung hineingegeben und bei Raumtemperatur (+18-30°C) 30 Minuten stehen gelassen. Anschließend wurde die in den Vertiefungen fortschreitende enzymatische Reaktion durch Zugabe von 100 µl Stopplösung (R10) angehalten und die optische Dichte bei 450/620 nm mit einem Mikroplatten-Photometer (Sanofi Diagnostics Pasteur, Marnes-la-Coquette, France) abgelesen.

Abbildung 21 zeigt die Standardkurve der Standardseren, welche zur Bestimmung der anti-Mannan-Antikörperkonzentration ausgedrückt in AU/ml (Arbitrary Units/ml) aufgestellt wurde. Sie wird durch die vier Standardseren mit einer anti-Mannan-Antikörperkonzentration (C) von 2,5, 5, 10 und 20 AU/ml und bei einer optischen Dichte (OD) von 450/620 nm ermittelt. Um eine maximale Präzision zu erreichen, wird eine S-Kurve mit Extrapolation durch Auftragen der Konzentration in AU/ml auf der x-Achse (logarithmische Skala) und der optischen Dichte auf der y-Achse (lineare Skala) erstellt. Folgende Kriterien zur Durchführung eines gültigen Tests für die Patientenseren der Gruppen I bis III müssen erfüllt sein:

Optische Dichte: $0,400 < \text{OD des 5 AU/ml-Standards} < 1,200$

Verhältnis: $\text{OD (20 AU/ml-Standard)} / \text{OD (5 AU/ml-Standard)} > 2,0$
 $\text{OD (10 AU/ml-Standard)} / \text{OD (5 AU/ml-Standard)} > 1,4$
 $\text{OD (2,5 AU/ml-Standard)} / \text{OD (5 AU/ml-Standard)} < 0,8$

Anti-Mannan-Antikörperkonzentration: Das negative Kontrollserum sollte eine Konzentration von $<2,5$ AU/ml und das positive Kontrollserum sollte eine Konzentration von ≥ 10 AU/ml aufweisen. Für die Erstellung der Standardkurve werden jedoch beide Seren laut Hersteller nicht berücksichtigt.

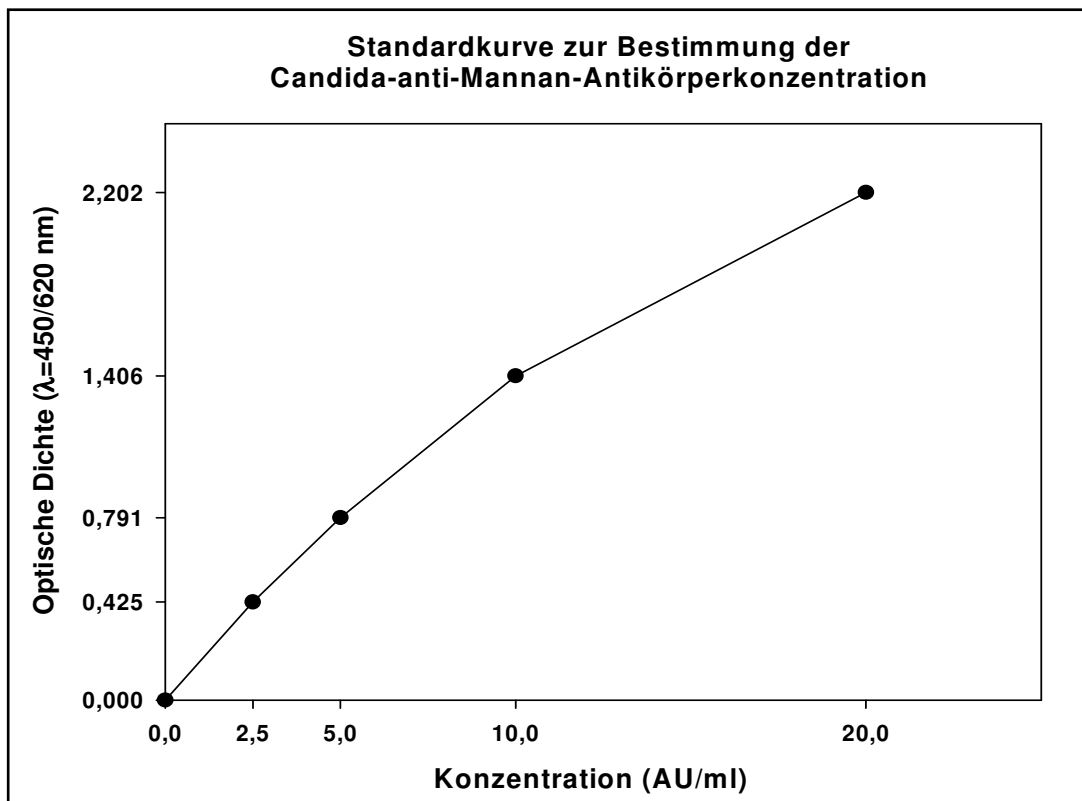


Abb. 21: Standardkurve zur Bestimmung der anti-Mannan-Antikörperkonzentration

Die Kriterien für die optische Dichte des 5 AU/ml-Standards mit 0,791 größer als 0,400 und kleiner als 1,200 sowie die des -KS mit 0,066 kleiner als 0,425 (2,5 AU/ml-Standards) und die des +KS mit 1,506 größer als 1,406 (10 AU/ml-Standards) sind somit erfüllt, ebenso die optische Dichte der Verhältnisse der Standardseren mit folgenden Werten:

- $OD (2,202 / 0,791) = 2,784 \rightarrow (> 2,0)$
- $OD (1,406 / 0,791) = 1,778 \rightarrow (> 1,4)$
- $OD (0,425 / 0,791) = 0,538 \rightarrow (< 0,8)$

3.7 Statistik

Die Erfassung der Daten sowie die Erstellung der Grafiken erfolgte mit Microsoft Excel 2003. Die statistische Auswertung wurde mit dem Programm SPSS® für Windows, Version 15.0 in Zusammenarbeit mit dem Institut für medizinische Informatik an der Justus-Liebig-Universität Gießen vorgenommen.

Die kategorialen Merkmale werden mit Hilfe von absoluten und relativen Häufigkeiten dargestellt, die quantitativen (ordinalskalierten) Daten unter Zuhilfenahme von Median, Mittelwert, Minimum und Maximum beschrieben.

Die drei betrachteten Patientengruppen werden bezüglich ihrer Merkmale wie Geschlecht, Altersgruppen, Candida-Spezies, Streptokokken-/ Laktobazillen-besiedlung, pH-Wert, Candida-Antigen/-Antikörper unter Anwendung des Chi-Quadrat-Tests für Kreuztabellen verglichen. Unterschiede hinsichtlich quantitativer Merkmale wie Häufigkeit /Stärke der Keimbefestigung, dmf(t)-, DMF(T)- und DMF/dmf(T/t)-Wert werden mit Hilfe des Kruskal-Wallis-Tests beurteilt. Zusammenhänge zwischen der Häufigkeit / Stärke der Candidabefestigung und dem Kariesstatus werden mit Hilfe der Spearman-Rang-Korrelation überprüft.

Die Datenanalyse hat explorativen Charakter. Kriterium für die Beibehaltung bzw. Ablehnung der jeweils getesteten Nullhypothese ist die berechnete Wahrscheinlichkeit für den Fehler 1. Art „p“, die im Ergebnisteil jeweils angegeben wird.

4 Ergebnisse

4.1 Alters- und Geschlechtsverteilung

Tabelle 1 gibt das Alter und Geschlecht aller Patienten der einzelnen Gruppen wieder. Die Gesamtanzahl der 78 untersuchten Kinder unterteilte sich in 34 (43,2%) Mädchen und 44 (56,8%) Jungen.

Die Vergleichsgruppe (Gruppe I), welche weder endokarditisprophylaxepflichtige noch immunsupprimierte herzkrankte Kinder einschließt, setzte sich aus 12 (52,2%) weiblichen und 11 (47,8%) männlichen Probanden mit einem Durchschnittsalter von 111,3 Monaten zusammen. Gruppe II bestand aus jeweils 12 (50%) endokarditisprophylaxepflichtigen herzkranken Jungen und Mädchen. Das Durchschnittsalter betrug hier 91 Monate. In der Gruppe der Kinder mit Immunsuppression und Endokarditisprophylaxepflicht nach Herztransplantation (Gruppe III) befanden sich 10 (32,3%) weibliche und 21 (67,7%) männliche Patienten. Deren Durchschnittsalter lag bei 95,7 Monaten.

Tab. 1: Alters- und Geschlechtsverteilung

Kinder	Mädchen		Jungen		Gesamt		Ø Alter (Monate)
	abs.	%	abs.	%	abs.	%	
Gruppe I -herzgesund-	12	52,2	11	47,8	23	100	111,3
Gruppe II -CHD-	12	50,0	12	50,0	24	100	91,0
Gruppe III -HTx-	10	32,3	21	67,7	31	100	95,7
Gesamt	34	43,2	44	56,8	78	100	99,3

4.2 DMF(T)/dmf(t)-Befunde

In Tabelle 2 sind die durchschnittlichen DMF-/dmf(T/t)- Gesamt- und Einzelwerte der Patienten mit Herzbefunden und der Vergleichsgruppe ohne Herzbefunde in Gruppenzuordnung aufgeführt.

Tab. 2: Durchschnittliche DMF(T)/dmf(t)-Gesamt- und Einzelwerte nach Gruppenzuordnung

Gruppe I -herzgesund-	DMF(T)-Wert	0,5	dmf(t)-Wert	1,5	DMF(T)/dmf(t)-Wert	2,0
	D(T)-Wert	0,1	d(t)-Wert	1,2	D/d(T/t)-Wert	1,3
	M(T)-Wert	0,1	m(t)-Wert	0,0	M/m(T/t)-Wert	0,1
	F(T)-Wert	0,3	f(t)-Wert	0,3	F/f(T/t)-Wert	0,6
Gruppe II -CHD-	DMF(T)-Wert	0,2	dmf(t)-Wert	1,7	DMF(T)/dmf(t)-Wert	1,9
	D(T)-Wert	0,1	d(t)-Wert	1,2	D/d(T/t)-Wert	1,3
	M(T)-Wert	0,1	m(t)-Wert	0,0	M/m(T/t)-Wert	0,1
	F(T)-Wert	0,0	f(t)-Wert	0,5	F/f(T/t)-Wert	0,5
Gruppe III -HTx-	DMF(T)-Wert	0,3	dmf(t)-Wert	0,2	DMF(T)/dmf(t)-Wert	0,5
	D(T)-Wert	0,1	d(t)-Wert	0,2	D/d(T/t)-Wert	0,3
	M(T)-Wert	0,2	m(t)-Wert	0,0	M/m(T/t)-Wert	0,2
	F(T)-Wert	0,0	f(t)-Wert	0,0	F/f(T/t)-Wert	0,0
Gesamt	DMF(T)-Wert	0,3	dmf(t)-Wert	1,2	DMF(T)/dmf(t)-Wert	1,5
	D(T)-Wert	0,1	d(t)-Wert	0,9	D/d(T/t)-Wert	1,0
	M(T)-Wert	0,1	m(t)-Wert	0,0	M/m(T/t)-Wert	0,1
	F(T)-Wert	0,1	f(t)-Wert	0,3	F/f(T/t)-Wert	0,4

Der kombinierte durchschnittliche DMF/dmf(T/t)-Wert für Milch- und bleibende Gebisse, welcher sich aus der durchschnittlichen Anzahl der erkrankten (D/d-Werte), aufgrund von Karies extrahierten (M/m-Werte) und gefüllten Zähne (F/f-Werte) zusammensetzt, betrug zum Zeitpunkt der Untersuchung für alle Kinder 1,5. In ihm summierten sich der dmf(t)-Wert mit 1,2 für die Milchzähne und der DMF(T)-Wert mit 0,3 für die bleibenden Zähne.

Die Differenzierung des durchschnittlichen Gesamtwertes in die D/d-, M/m- und F/f-Einzelkomponenten zeigte, dass die Anzahl der erkrankten Zähne mit 1,0 den Hauptanteil ausmachte. Hingegen war der Anteil der fehlenden und gefüllten Zähne mit 0,1 bzw. 0,4 eher gering.

Bei Betrachtung der Kombinationswerte in Gruppenzuordnung fiel auf, dass der DMF/dmf(T/t)-Wert der Gruppe III (HTx) mit 0,5 signifikant ($p < 0,001$) unter dem der Vergleichsgruppe (GI) mit 2,0 und dem der GII mit 1,9 lag. Ebenso verhielt es sich

mit der Signifikanz von $p < 0,001$ beim $dmf(t)$ -Wert, während der $DMF(T)$ -Wert sich mit $p = 0,701$ jedoch als nicht signifikant erwies.

Auffällig war auch, dass anders als in GI und GII die GIII mit den herztransplantierten Kindern weder im Milch- noch im bleibenden Gebiss bisher gefüllte Zähne aufwies. Diesbezüglich resultierte der $dmf(t)$ -Wert von 0,2 für die GIII nur aus der Komponente $d(t) = 0,2$, und der $DMF(T)$ -Wert von 0,3 aus den Komponenten $D(T) = 0,1$ und $M(T) = 0,2$. In der GII addierte sich der $dmf(t)$ -Wert aus den Einzelwerten $d(t) = 1,2$, $m(t) = 0$ und $f(t) = 0,5$ zu 1,7 und der $DMF(T)$ -Wert aus $D(T) = 0,1$, $M(T) = 0,1$ und $F(T) = 0$ zu 0,2.

Der $dmf(t)$ -Wert für die Vergleichsgruppe betrug 1,5 und setzte sich aus einem $d(t) = 1,2$, einem $m(t) = 0$ und einem $f(t) = 0,3$ zusammen. Der $DMF(T)$ -Wert summierte sich hingegen aus den Einzelkomponenten $D(T) = 0,1$, $M(T) = 0,1$ und $F(T) = 0,3$ zu 0,5.

Die grafische Umsetzung der Ergebnisse für die durchschnittlichen Gesamtwerte im Milch- und bleibendem Gebiss erfolgte in Abbildung 22.

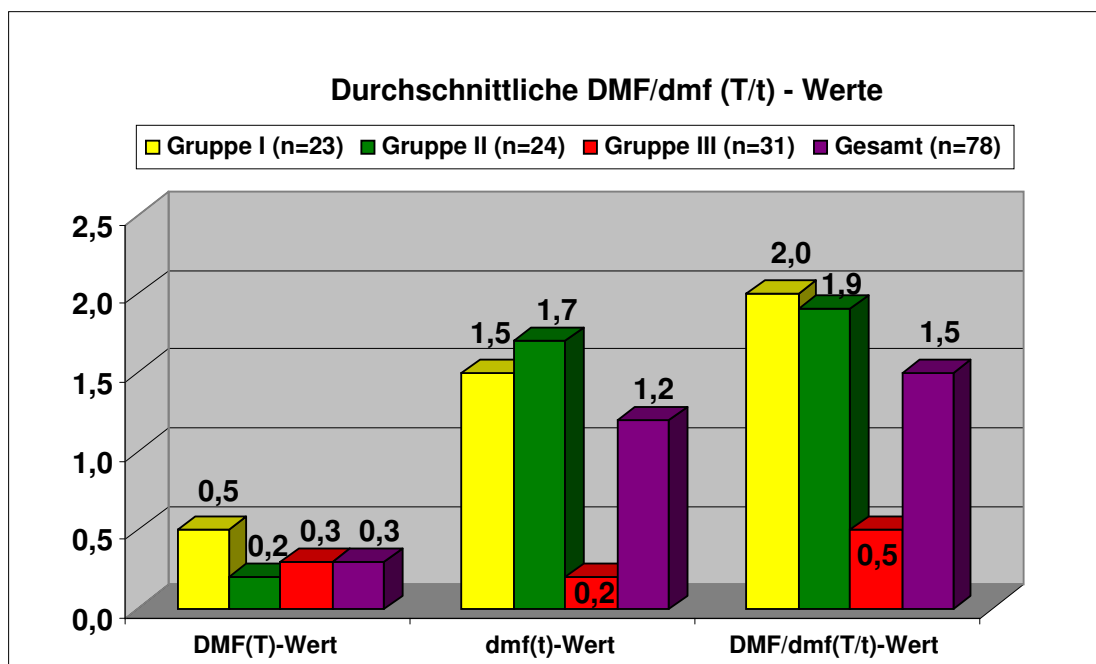


Abb. 22: Durchschnittliche $DMF(T)$ -, $dmf(t)$ - und $DMF/dmf(T/t)$ -Werte in Gruppenzuordnung

Es wird deutlich, dass die Kinder der HTx-Gruppe die günstigsten Werte im Milchgebiss und damit auch im Gesamtgebiss aufwiesen.

4.3 Keimbesiedelung der Mundhöhle

4.3.1 Bakterien der physiologischen Mundflora

Die Untersuchung der Bakterien der physiologischen Mundflora beschränkte sich auf die üblicherweise vorherrschenden aeroben und anaeroben Mikroorganismen. Bei Betrachtung der diesbezüglich vorkommenden Keime, wie Streptokokken der Viridans-Gruppe, nicht hämolysierende Streptokokken, saprophytäre Neisserien, Corynebakterien und koagulase negative Staphylokokken fiel auf, dass nur geringe Häufigkeitsunterschiede im Speichel, in der Plaque und in der kariösen Substanz im Gruppenvergleich auftraten (Tab. 3a-3c). *Staphylococcus aureus* ließ sich vereinzelt nur bei den Patienten der Vergleichsgruppe und bei denen der GIII im Speichel und der Plaque anzüchten.

Tab. 3a: Bakterien der physiologischen Mundflora der Vergleichsgruppe (GI)

Bakterien	Gruppe I (herzgesund)					
	Speichel		Plaque		Kariöse Substanz	
	abs.	%	abs.	%	abs.	%
<i>Streptococcus viridans</i>	23	100	23	100	3	13
nicht hämolysierende Streptokokken	23	100	21	91,3	3	13
Saprophytäre Neisserien	20	87	19	82,6	3	13
Corynebakterien	20	87	21	91,3	2	8,7
Koagulase negative Staphylokokken	5	21,7	1	4,3	1	4,3
<i>Staphylococcus aureus</i>	1	4,3	0	0	0	0

Tab. 3b: Bakterien der physiologischen Mundflora der CHD-Gruppe (GII)

Bakterien	Gruppe II (CHD)					
	Speichel		Plaque		Kariöse Substanz	
	abs.	%	abs.	%	abs.	%
<i>Streptococcus viridans</i>	24	100	24	100	6	25
nicht hämolysierende Streptokokken	24	100	22	91,7	6	25
Saprophytäre Neisserien	24	100	21	87,5	6	25
Corynebakterien	23	95,8	22	91,7	6	25
Koagulase negative Staphylokokken	1	4,2	1	4,2	0	0
<i>Staphylococcus aureus</i>	0	0	0	0	0	0

Tab. 3c: Bakterien der physiologischen Mundflora der HTx-Gruppe (GIII)

Bakterien	Gruppe III (HTx)					
	Speichel		Plaque		Kariöse Substanz	
	abs.	%	abs.	%	abs.	%
<i>Streptococcus viridans</i>	31	100	30	96,8	2	6,5
nicht hämolysierende Streptokokken	30	96,8	30	96,8	1	3,2
Saprophytäre Neisserien	29	93,5	30	96,8	1	3,2
Corynebakterien	30	96,8	28	90,3	1	3,2
Koagulase negative Staphylokokken	6	19,4	4	12,9	0	0
<i>Staphylococcus aureus</i>	4	12,9	3	9,7	0	0

4.3.2 Mutans Streptokokken im Speichel

Tab. 4: Mutans-Streptokokken (MS) im Speichel

Patienten	Mutans-Streptokokken	
	ja (%)	nein (%)
Gruppe I -herzgesund-	100	0
Gruppe II -CHD-	91,7	8,3
Gruppe III -HTx-	96,8	3,2
Gesamt	96,2	3,8

Von der Gesamtheit der 78 Kinder ließen sich in 96,2% Mutans Streptokokken im Speichel identifizieren. Davon war die GI mit 100% am häufigsten und die GII mit 91,7% am relativ seltensten betroffen.

Die ergänzende Differenzierung in Keimzahlklassen findet sich in Tabelle 5.

Tab. 5: Häufigkeit der Mutans-Streptokokken (MS)

Keimzahlklassen	0		1		2	
	abs.	%	abs.	%	abs.	%
Gruppe I -herzgesund-	0	0	15	65,2	8	34,8
Gruppe II -CHD-	2	8,3	17	70,9	5	20,8
Gruppe III -HTx-	1	3,2	19	61,3	11	35,5

0: keine; 1: wenig ($< 10^5$ KBE/ml Speichel); 2: viel ($\geq 10^5$ KBE/ml Speichel)

Mutans Streptokokken ließen sich bei allen Kindern der Vergleichsgruppe GI isolieren, während in 8,3% der Fälle aus GII und in 3,2% der Fälle aus GIII dieser Keim nicht nachgewiesen werden konnte.

In allen Gruppen überwog die Keimzahlklasse 1. So hatten 65,2% der Kinder aus der Vergleichsgruppe, 70,9% der Kinder aus der GII und 61,3% der Kinder aus GIII unter 10^5 KBE/ml Speichel. Die Unterschiede zwischen den drei Untersuchungs-Gruppen erwiesen sich jedoch mit $p=0,482$ als nicht signifikant.

Abbildung 23 zeigt die grafische Umsetzung der Ergebnisse aus Tabelle 5.

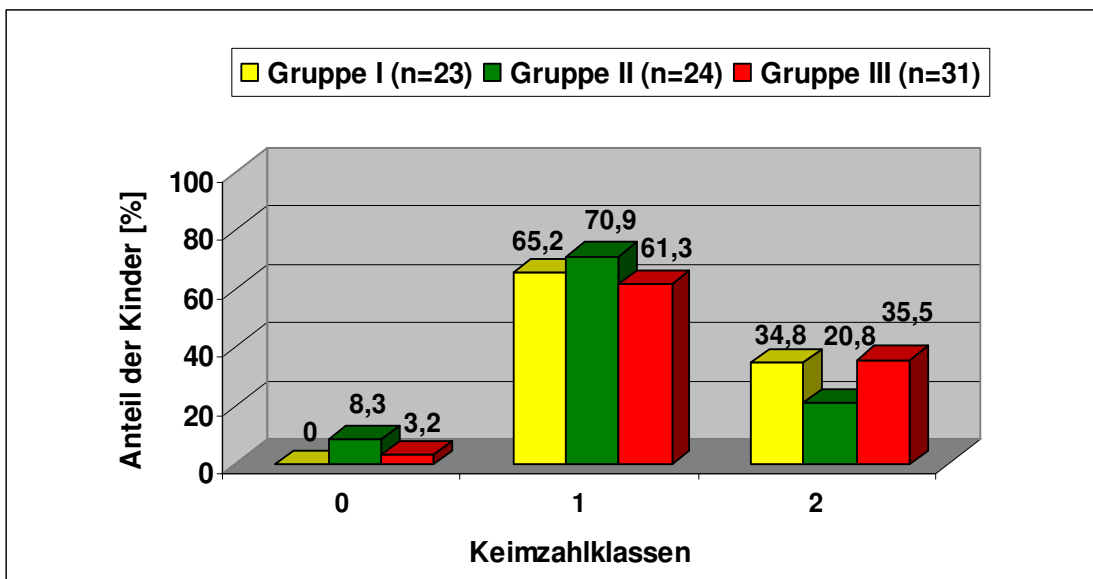


Abb. 23: Relative Verteilung der Mutans-Streptokokken

4.3.3 Laktobazillen im Speichel

Tab. 6: Laktobazillen im Speichel

Patienten	Laktobazillen	
	ja (%)	nein (%)
Gruppe I -herzgesund-	95,7	4,3
Gruppe II -CHD-	83,3	16,7
Gruppe III -HTx-	96,8	3,2
Gesamt	92,3	7,7

Von allen 78 Kindern ließen sich im Speichel in 92,3% Laktobazillen nachweisen. Am häufigsten waren diese Keime mit 96,8% in der Gruppe der HTx-Kinder vertreten. Am relativ seltensten wurden sie in der Gruppe der CHD-Patienten gefunden.

Die Ergebnisse zum ergänzenden quantitativen Nachweis der Laktobazillen gemäß CRT®-bacteria-Test werden in Tabelle 7 dargestellt.

Tab. 7: Häufigkeit der Laktobazillen (LB)

Keimzahlklassen	0		1		2	
	abs.	%	abs.	%	abs.	%
Gruppe I -herzgesund-	1	4,3	14	60,9	8	34,8
Gruppe II -CHD-	4	16,7	16	66,7	4	16,7
Gruppe III -HTx-	1	3,2	20	64,5	10	32,3

0: keine; 1: wenig ($< 10^5$ KBE/ml Speichel); 2: viel ($\geq 10^5$ KBE/ml Speichel)

Wie bei den Mutans Streptokokken war auch bei den Laktobazillen die Keimzahlklasse 1 in allen Patientengruppen am stärksten vertreten. Sie machte 60,9% in der GI, 66,7% in der GII und 64,5% in der GIII aus. Das heißt, es wurden unter 10^5 KBE/ml Speichel nachgewiesen. Dementsprechend beliefen sich die Anteile für die Keimzahlklasse 2 auf Werte zwischen 16,7 (GII) und 34,8% (GI). Die Unterschiede zwischen den drei Untersuchungsgruppen erwiesen sich jedoch mit $p=0,25$ als nicht signifikant.

Die grafische Umsetzung der Ergebnisse aus Tabelle 7 erfolgte in Abbildung 24.

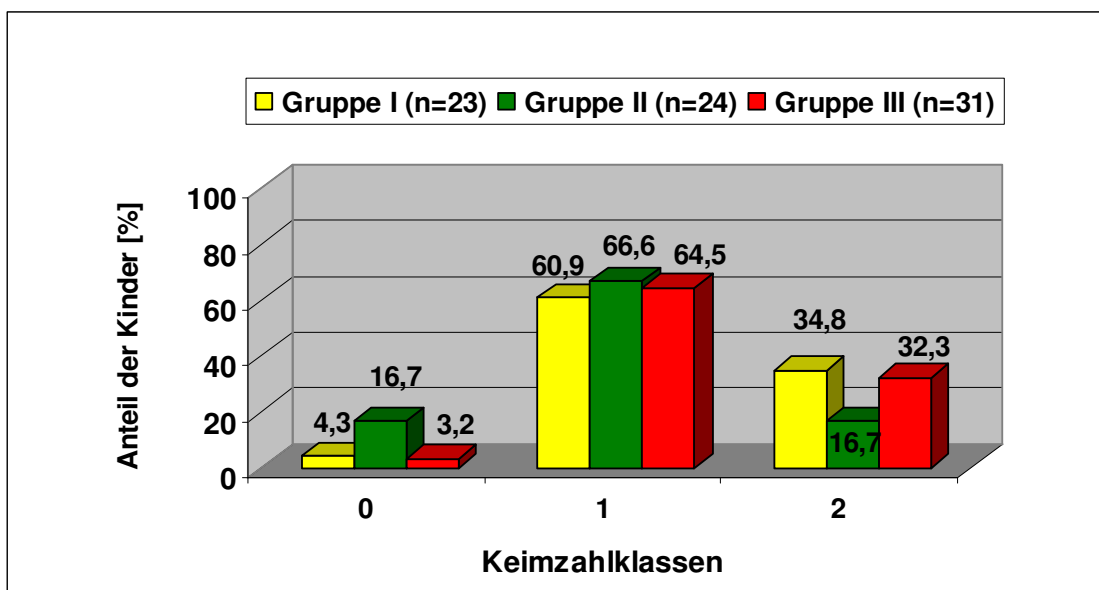


Abb. 24: Relative Verteilung der Laktobazillen

4.3.4 Pufferkapazität des Speichels

Die Ergebnisse zur Bestimmung der Pufferkapazität des Speichels aller Kinder, welche über die Messung der pH-Werte ermittelt wurde, werden in Tabelle 8 wiedergegeben.

Tab. 8 Pufferkapazität des Speichels

pH-Wert-Klassen	1		2		3	
	abs.	%	abs.	%	abs.	%
Gruppe I -herzgesund-	9	39,1	12	52,2	2	8,7
Gruppe II -CHD-	5	20,8	15	62,5	4	16,7
Gruppe III -HTx-	13	41,9	14	45,2	4	12,9

1: hoch (pH > 6); 2: mittel (pH 4,5 - 5,5); 3: niedrig (pH < 4)

Bei den zugleich endokarditisprophylaxepflichtigen und immunsupprimierten Kindern nach HTx bestand in 41,9% der Fälle ein End-pH von >6,0 und somit eine hohe Pufferkapazität, während dies bei den herzkranken (mit CHD) Jungen und Mädchen in 20,8% der Fälle und bei den Kindern der Vergleichsgruppe in 39,1% zutraf. Für die Kinder der GI lag darüber hinaus in 8,7% eine niedrige und in 52,2% eine mittlere Pufferkapazität vor. Dem standen 16,7% der Patienten aus Gruppe II mit einem niedrigen und 62,5% mit einem mittleren pH-Wert gegenüber. Auch in Gruppe III verhielt es sich ähnlich wie in Gruppe II. Hier lag in 12,9% eine geringe und in 45,2% eine mittlere Pufferkapazität vor. Beim statistischen Gruppenvergleich ergaben sich jedoch keine signifikanten Unterschiede ($p=0,511$).

Die grafische Umsetzung der Ergebnisse aus Tabelle 8 erfolgte in Abbildung 25.

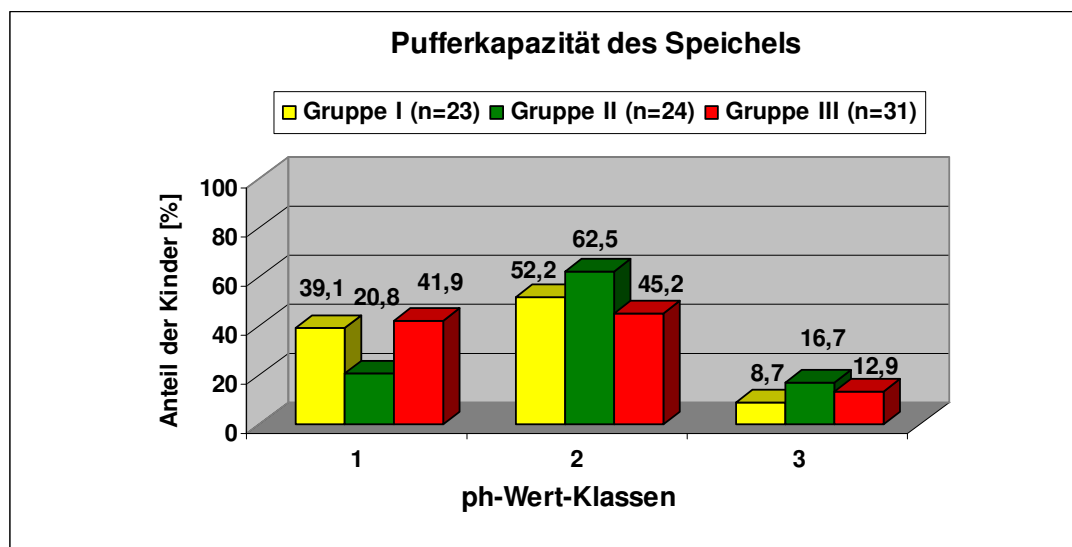


Abb. 25: Vergleich der Pufferkapazität des Speichels

4.4 Candida Spezies in der Mundhöhle und im Stuhl

4.4.1 Häufigkeit der Candidabesiedelung

Bei den diagnostizierten Hefen handelte es sich um verschiedene Candida Spezies, wie zum Beispiel *C. albicans*, *C. dubliniensis*, *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. parapsilosis* und *C. lusitanae*. Dabei wurden bei allen Kindern sowohl Speichel-, Plaque- und Stuhlproben als auch, falls vorhanden, Proben der kariösen Zahnhartsubstanz auf das Vorkommen von Pilzen untersucht. Tabelle 9 gibt die Verteilung der Sprosspilze in allen drei Untersuchungsgruppen wieder.

Tab. 9 Häufigkeit der Candidabesiedelung nach Gruppenzuordnung

Candida-vorkommen	Speichel		Plaque		kariöse Substanz		Stuhl	
	abs.	%	abs.	%	abs.	%	abs.	%
Gruppe I -herzgesund-	8	34,8	5	21,7	2	8,7	10	43,5
Gruppe II -CHD-	10	41,6	3	12,5	3	12,5	7	29,2
Gruppe III -HTx-	10	32,3	7	22,5	1	3,2	3	9,7

Zwischen den Gruppen bestand kein signifikanter Unterschied bei der Candidabesiedelung der Mundhöhle. Dementsprechend fanden sich für die Vergleichsgruppe in 34,8% der Fälle Candida im Speichel, in 21,7% in der Plaque und in 8,7% in kariös erweichter Zahnschubstanz. Bei den Kindern der CHD-Gruppe lag das Vorkommen im Speichel bei 41,6%, sowie in der Plaque und der kariös erweichten Zahnschubstanz bei jeweils 12,5%. Die herztransplantierten Jungen und Mädchen wiesen in 32,3% der Fälle Candida im Speichel, in 22,5% in der Plaque und in nur 3,2% in der kariös erweichten Substanz auf. Dem gegenüber bestand ein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen bei den Stuhlproben mit $p=0,027$. Hier fiel auf, dass die GIII mit nur 9,7% gegenüber der GII mit 29,2% und der GI mit sogar 43,5% deutlich abfiel.

Die grafische Umsetzung der Ergebnisse aus Tabelle 9 erfolgte in Abbildung 26.

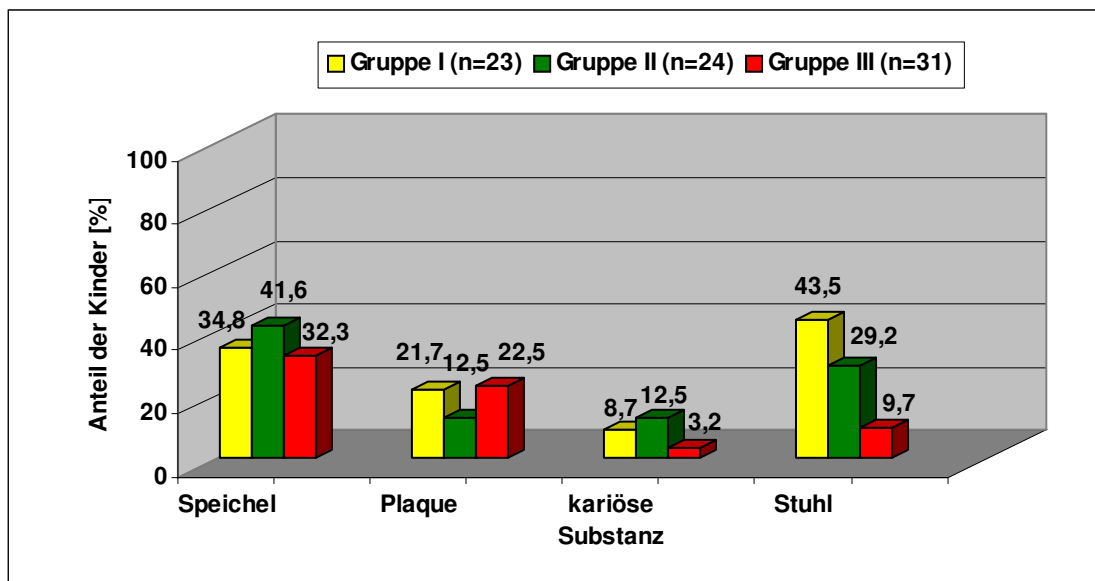


Abb. 26: Relative Candidabesiedelung in den untersuchten Substanzen

4.4.2 Candidabesiedelung in Zuordnung nach Keimzahlklassen

In Tabelle 10 wurden die Ergebnisse der Candidabesiedelung in Zuordnung nach Keimzahlklassen dargestellt.

Tab. 10: Candidabesiedelung in Zuordnung nach Keimzahlklassen

Keimzahlklassen		0		1		2		3		4	
		abs.	%	abs.	%	abs.	%	abs.	%	abs.	%
Gruppe I -herzgesund-	Speichel	15	65,2	2	8,7	5	21,7	1	4,4	0	0
	Plaque	18	78,3	2	8,7	0	0	3	13,0	0	0
	kariöse Substanz	21	91,3	0	0	2	8,7	0	0	0	0
	Stuhl	13	56,5	4	17,4	2	8,7	2	8,7	2	8,7
Gruppe II -CHD-	Speichel	14	58,4	5	20,8	5	20,8	0	0	0	0
	Plaque	21	87,5	2	8,3	0	0	1	4,2	0	0
	kariöse Substanz	21	87,5	2	8,3	1	4,2	0	0	0	0
	Stuhl	17	70,8	1	4,2	1	4,2	3	12,5	2	8,3
Gruppe III -HTx-	Speichel	21	67,7	6	19,4	4	12,9	0	0	0	0
	Plaque	24	77,5	1	3,3	2	6,4	2	6,4	2	6,4
	kariöse Substanz	30	96,8	0	0	0	0	1	3,2	0	0
	Stuhl	28	90,3	0	0	2	6,5	0	0	1	3,2

0: keine; 1: einzelne (<10 KBE); 2: wenig (10-10² KBE); 3: viel (10²-10³ KBE); 4: massenhaft (>10³ KBE)

Bei den Kindern der Vergleichsgruppe GI und der GII wurde die höchste Keimzahlklasse 4 (=massenhaft; $>10^3$ KBE) in keinem Fall in der Mundhöhle nachgewiesen. Demgegenüber war diese jedoch für die GIII in 6,4% vertreten. Bezogen auf die Stuhlproben ließ sich *Candida* in 8,7% in der GI, in 8,3% in der GII und in 3,2% in der GIII „massenhaft“ identifizieren.

Die grafische Umsetzung der Ergebnisse aus der Tabelle 10 erfolgte in Abbildung 27.

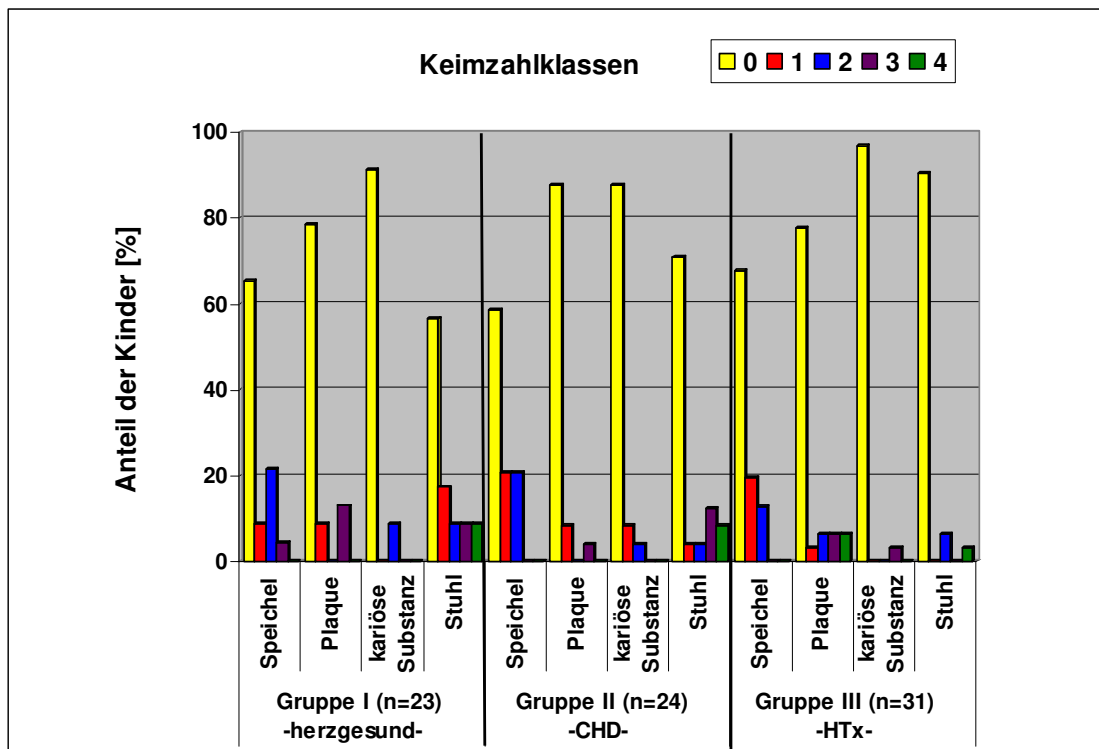


Abb. 27: Relative *Candida*-Mengenverteilung in Zuordnung nach Keimzahlklassen

Sowohl bei der Vergleichsgruppe als auch bei den herzkranken Kindern der GII und den herztransplantierten Kindern der GIII fallen die Anteile in Richtung höherer Keimzahlklassen aller untersuchten Substanzen deutlich ab. Der Vergleich zwischen den Gruppen erwies sich hierbei für Speichel-, Plaque-, Karies und Stuhlproben jeweils als nicht signifikant.

4.4.3 Verteilung der Candida-Proben nach Spezies

Tabelle 11 gibt die Ergebnisse der Verteilung der Hefepilzproben nach Spezies in allen drei Untersuchungsgruppen wieder.

Tab. 11: Verteilung der Candidaproben nach Spezieszuordnung in allen drei Gruppen

Candida Spezies		keine		<i>C. albicans</i>		<i>C. krusei</i>		<i>C. glabrata</i>	
		abs.	%	abs.	%	abs.	%	abs.	%
Gruppe I -herzgesund-	Speichel	15	65,2	4	17,4	0	0	0	0
	Plaque	18	78,3	1	4,3	0	0	0	0
	kariöse Substanz	21	91,3	1	4,3	0	0	0	0
	Stuhl	13	56,5	4	17,4	0	0	0	0
Gruppe II -CHD-	Speichel	14	58,3	10	41,7	0	0	0	0
	Plaque	21	87,5	3	12,5	0	0	0	0
	kariöse Substanz	21	87,5	3	12,5	0	0	0	0
	Stuhl	17	70,8	6	25,0	0	0	1	4,2
Gruppe III -HTx-	Speichel	21	67,7	10	32,3	0	0	0	0
	Plaque	24	77,4	7	22,6	0	0	0	0
	kariöse Substanz	30	96,8	1	3,2	0	0	0	0
	Stuhl	28	90,3	2	6,5	1	3,2	0	0
Anzahl der Proben		243	77,9	52	16,7	1	0,3	1	0,3

Fortführung der Tabelle 11

Candida Spezies		<i>C. dubliniensis</i>		<i>C. lusitaniae</i>		<i>C. parapsilosis</i>	
		abs.	%	abs.	%	abs.	%
Gruppe I -herzgesund-	Speichel	4	17,4	0	0	0	0
	Plaque	3	13,0	0	0	1	4,3
	kariöse Substanz	1	4,3	0	0	0	0
	Stuhl	5	21,7	1	4,3	0	0
Gruppe II -CHD-	Speichel	0	0	0	0	0	0
	Plaque	0	0	0	0	0	0
	kariöse Substanz	0	0	0	0	0	0
	Stuhl	0	0	0	0	0	0
Gruppe III -HTx-	Speichel	0	0	0	0	0	0
	Plaque	0	0	0	0	0	0
	kariöse Substanz	0	0	0	0	0	0
	Stuhl	0	0	0	0	0	0
Anzahl der Proben		13	4,2	1	0,3	1	0,3

Es fällt auf, dass in allen untersuchten Proben (Speichel, Plaque, kariöse Substanz, Stuhl) *C. albicans* der am häufigsten nachgewiesene Keim war. So wurden 52 (75,4%) von insgesamt 69 Proben positiv auf *C. albicans* getestet. Die Keime *C. krusei*, *C. glabrata*, *C. lusitaniae* und *C. parapsilosis* machten jeweils nur 4 (5,8%) der positiven Proben aus, während *C. dubliniensis* in 13 Proben (18,8%) nachgewiesen wurde.

Der Vergleich zwischen den Gruppen erwies sich hier für Speichel- ($p=0,017$), Plaque- (0,044) und Stuhlproben ($p=0,01$) jeweils als signifikant.

4.4.4 Patienten mit Candidabesiedelung der Mundhöhle und des Stuhls

Ergänzend wurde ermittelt, wie viele der insgesamt 78 Kinder bei Gruppenzuordnung Candida nur im Stuhl, nur in der Mundhöhle, sowohl in der Mundhöhle als auch im Stuhl sowie gar nicht aufwiesen (Tab. 11).

Tab. 11: Mengenmäßige Candidabesiedelung der Mundhöhle und des Stuhls

Candida- besiedelung	Stuhl		Mundhöhle		Mundhöhle + Stuhl		Keine	
	abs.	%	abs.	%	abs.	%	abs.	%
Gruppe I -herzgesund-	3	13,0	1	4,4	7	30,4	12	52,2
Gruppe II -CHD-	1	4,2	4	16,7	6	25	13	54,1
Gruppe III -HTx-	0	0	7	22,6	3	9,7	21	67,7
Gesamt	4	5,1	12	15,4	16	20,5	46	59,0

Es fiel auf, dass die Vergleichsgruppe mit 30,4% der Fälle am häufigsten einen gleichzeitigen Candidabefall in der Mundhöhle und im Stuhl zeigte. Dagegen war dies in der CHD-Gruppe nur in 25% und in der Gruppe der immunsupprimierten Kinder nach HTx nur in 9,7% der Fälle so. Ausschließlich im Stuhl fanden sich Candida Spezies nur bei 13% der GI und 4,2% der GII. Dem standen 4,4% in GI,

16,7% in GII und 22,6% in GIII gegenüber, wo sich Candida nur in den Substanzen der Mundhöhle identifizieren ließ.

Die grafische Umsetzung der Ergebnisse aus Tabelle 11 erfolgte in Abbildung 28.

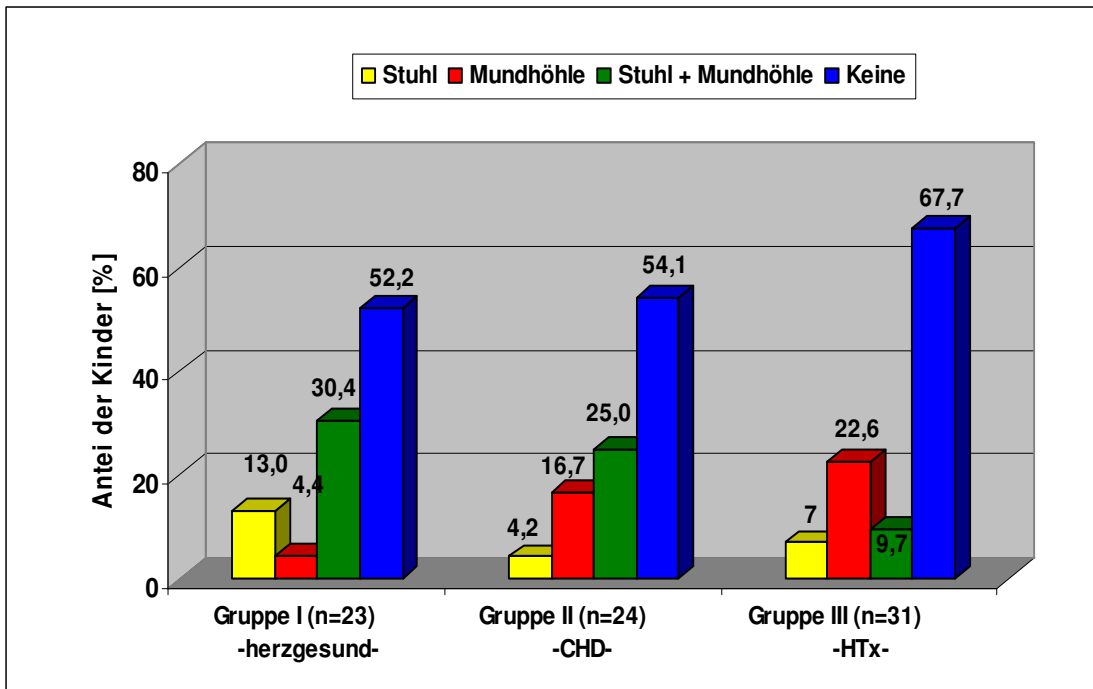


Abb. 28: Relative Häufigkeit der Candidabesiedelung in Zuordnung nach den untersuchten Substanzen

4.5 DMF/dmf(T/t)-Wert bezogene Candidahäufigkeit

4.5.1 Candidabesiedelung der Mundhöhle in Abhängigkeit vom Kariesstatus

Wie sich die Häufigkeit der Candidabesiedelung mit dem Kariesstatus in der Mundhöhle veränderte, wird in Tabelle 12 dargestellt. Verglichen wurden dazu die Kinder mit naturgesundem Gebiss ($DMF/dmf(T/t)=0$), die Kinder mit Karieserfahrung ($DMF/dmf(T/t) \geq 1$) und die Kinder mit aktueller Karies ($D/d \geq 1$) der einzelnen Gruppen. Für alle Gruppen bestätigte sich die relativ seltene Candidabesiedelung der Mundhöhle (Speichel, Plaque oder kariöse Zahnhartsubstanz) bei den noch naturgesunden Gebissen und die häufigste Besiedelung bei den Gebissen mit

aktueller Karies. So hatten 75% der Kinder aus der Vergleichsgruppe, 54,5% der Kinder aus der GII und sogar 100% der Kinder aus GIII mit aktueller Karies Candida in der Mundhöhle. Dagegen lagen die Prozentanteile bei den Kindern mit naturgesunden Gebissen bei nur 23,5 (GI), 25,0 (GII) und 28,6 (GIII).

Tab. 12: Candidabesiedelung der Mundhöhle in Abhängigkeit vom Kariesstatus

Candidabesiedelung der Mundhöhle		Ja		Nein	
		n	%	n	%
Gruppe I (n=23) -herzgesund-	DMF/dmf(T/t) = 0 (n=17)	4	23,5	13	76,5
	DMF/dmf(T/t) ≥ 1 (n=6)	4	66,7	2	33,3
	D/d ≥ 1 (n=4)	3	75,0	1	25,0
Gruppe II (n=24) -CHD-	DMF/dmf(T/t) = 0 (n=8)	2	25,0	6	75,0
	DMF/dmf(T/t) ≥ 1 (n=16)	8	50,0	8	50,0
	D/d ≥ 1 (n=11)	6	54,5	5	45,5
Gruppe III (n=31) -HTx-	DMF/dmf(T/t) = 0 (n=28)	8	28,6	20	71,4
	DMF/dmf(T/t) ≥ 1 (n=3)	2	66,7	1	33,3
	D/d ≥ 1 (n=2)	2	100,0	0	0

Die Korrelation zwischen der Stärke der Candidabesiedelung im Speichel und dem Kariesstatus war mit $p < 0,001$ signifikant, wobei der Korrelationskoeffizient 0,377 betrug. Ähnlich verhielt es sich in der Plaque. Die Signifikanz lag ebenfalls bei $p < 0,001$ und der Korrelationskoeffizient bei 0,527.

Die grafische Umsetzung der Ergebnisse aus Tabelle 12 erfolgte in Abbildung 29.

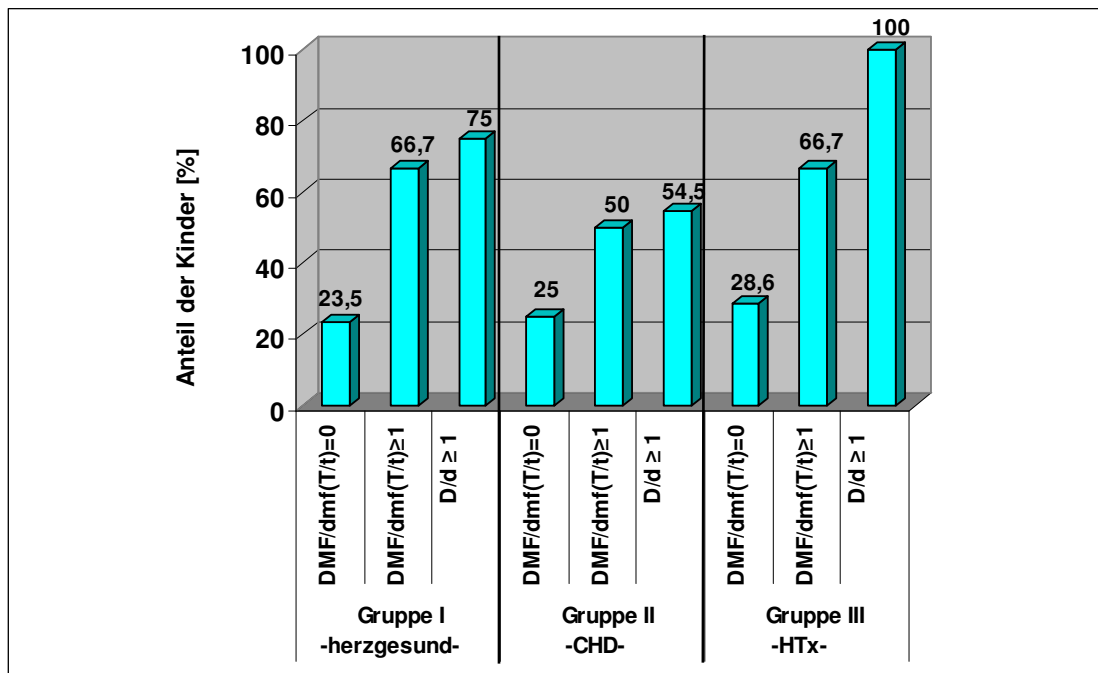


Abb. 29: Relative Candidabesiedelung der Mundhöhle in Abhängigkeit vom Kariesstatus

4.5.2 Candidabesiedelung des Stuhls in Abhängigkeit vom Kariesstatus

Die DMF/dmf (T/t) - bezogene Häufigkeit der Candidabesiedelung des Stuhls wird in Tabelle 13 wiedergegeben. Wie bei der Candidabesiedelung der Mundhöhle wurden auch hier die Kinder mit naturgesundem Gebiss (DMF/dmf(T/t)=0), die Kinder mit Karieserfahrung (DMF/dmf(T/t)≥1) und die Kinder mit aktueller Karies (D/d≥1) in Gruppenzuordnung untereinander verglichen.

Während die Kinder mit naturgesunden Gebissen sowohl in der GI als auch in der GII die niedrigsten Anteile bei der Candidabesiedelung aufwiesen, war dies in der GIII anders: hier war nur bei 3 Kindern überhaupt Candida festzustellen und diese gehörten zu denen mit naturgesunden Gebissen.

Tab. 13 Candidabesiedelung des Stuhls in Abhängigkeit vom Kariesstatus

Candidabesiedelung des Stuhls		Ja		Nein	
		n	%	n	%
Gruppe I (n=23) -herzgesund-	DMF/dmf(T/t) = 0 (n=17)	6	35,3	11	64,7
	DMF/dmf(T/t) ≥ 1 (n=6)	4	66,7	2	33,3
	D/d ≥ 1 (n=4)	2	50	2	50
Gruppe II (n=24) -CHD-	DMF/dmf(T/t) = 0 (n=8)	2	25	6	75
	DMF/dmf(T/t) ≥ 1 (n=16)	5	31,2	11	68,8
	D/d ≥ 1 (n=11)	4	36,4	7	63,6
Gruppe III (n=31) -HTx-	DMF/dmf(T/t) = 0 (n=28)	3	10,7	25	89,3
	DMF/dmf(T/t) ≥ 1 (n=3)	0	0	3	100
	D/d ≥ 1 (n=2)	0	0	2	100

Die Korrelation zwischen der Stärke der Candidabesiedelung des Stuhls und dem Kariesstatus war mit $p=0,064$ nicht signifikant. Der Korrelationskoeffizient lag bei 0,211.

Die grafische Umsetzung der Ergebnisse aus Tabelle 13 erfolgte in Abbildung 30.

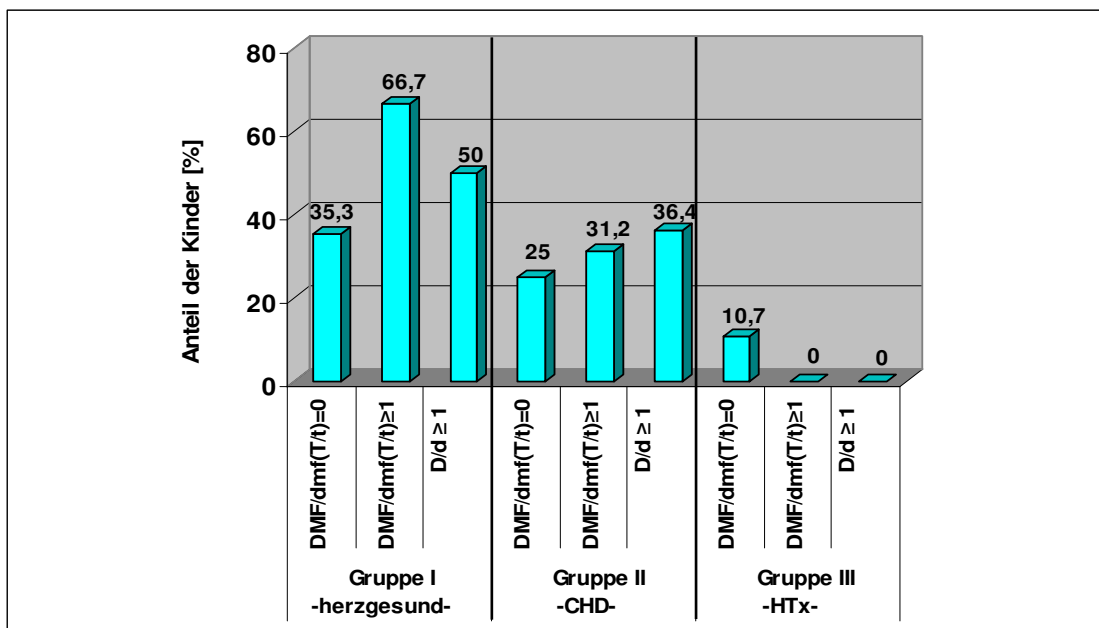


Abb. 30: Relative Candidabesiedelung des Stuhls in Abhängigkeit vom Kariesstatus

4.6 Candidabesiedelung im Serum

4.6.1 Candida-Mannan-Antigen-Nachweis im Serum

Die Ergebnisse zur quantitativen Bestimmung der Candida-Mannan-Konzentration im Patientenserum werden in Tabelle 14 und in Abbildung 31 dargestellt. Serumproben mit einer Mannan-Konzentration unter 0,25 ng/ml wurden als „**negativ**“, zwischen 0,25 und 0,5 ng/ml als „**fraglich**“ und größer oder gleich 0,5 ng/ml als „**positiv**“ für das Vorliegen von Mannan-Antigenen betrachtet. Zur Verfügung standen Serumproben von allen 23 Patienten der GI, 18 Patienten der GII und von allen 31 Patienten der GIII.

Tab. 14: Häufigkeit der Candida-Mannan-Antigene im Serum

Patienten	Candida-Mannan-Antigene					
	positiv		negativ		fraglich	
	abs.	%	abs.	%	abs.	%
Gruppe I -herzgesund-	3	13,0	15	65,2	5	21,8
Gruppe II -CHD-	1	5,5	14	77,8	3	16,7
Gruppe III -HTx-	5	16,1	8	25,8	18	58,1

Eine positive Mannan-Antigen-Konzentration im Serum mit größer oder gleich des 0,5 ng/ml-Standards wurde in 13% der Fälle für die Vergleichsgruppe, in 5,5% für die GII und in 16,1% für die HTx-Gruppe nachgewiesen. Hingegen fand sich bei 65,2% der GI, bei 77,8% der Gruppe der herzkranken Kinder (ohne HTx) und bei 25,8% der GIII eine negative Mannan-Konzentration unterhalb des 0,25 ng/ml-Standards. Von den insgesamt 72 Patientenseren wurden schließlich 26 der Kategorie „fraglich“ zugeordnet, da ihre optische Dichte größer oder gleich des 0,25 ng/ml-Standards war. In Differenzierung traf dies für 5 Patienten aus der GI (21,8%), 3 (16,7%) aus der GII und 18 (58,1%) aus der GIII zu.

Die grafische Umsetzung der Ergebnisse aus Tabelle 14 erfolgte in Abbildung 32

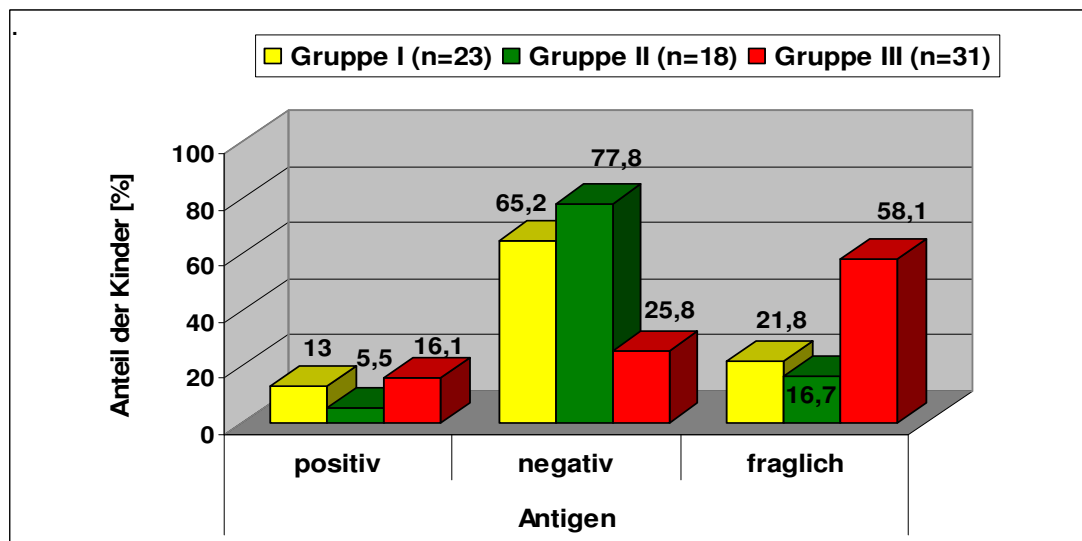


Abb. 32: Candida-Mannan-Antigen-Nachweis

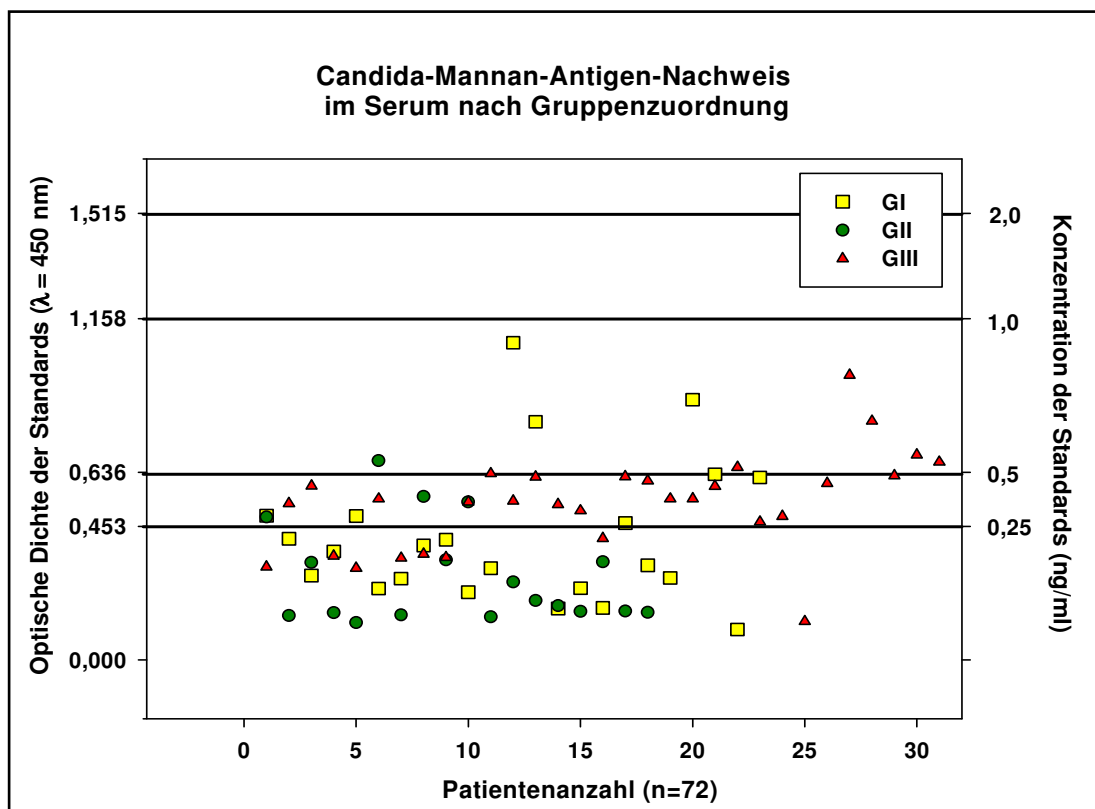


Abb. 31: Quantitative Bestimmung der Candida-Mannan-Antigenkonzentration

Der statistische Gruppenvergleich ergab für die Häufigkeit der Candida-Mannan-Antigene im Serum eine Signifikanz von $p < 0,001$.

4.6.2 Candida-anti-Mannan-Antikörper-Nachweis im Serum

Die Ergebnisse zur quantitativen Bestimmung der Candida-anti-Mannan-Antikörperkonzentration im Patientenserum aller Kinder werden in Tabelle 15 und in Abbildung 33 dargestellt. Serumproben mit einer anti-Mannan-Antikörperkonzentration unter 5 AU/ml wurden als „**negativ**“, zwischen 5 und 10 AU/ml als „**fraglich**“ und größer oder gleich 10 AU/ml als „**positiv**“ für das Vorliegen von anti-Mannan-Antikörpern betrachtet.

Tab. 15: Häufigkeit der Candida-anti-Mannan-Antikörper im Serum

Patienten	Candida-anti-Mannan-Antikörper					
	positiv		negativ		fraglich	
	abs.	%	abs.	%	abs.	%
Gruppe I -herzgesund-	3	13,0	20	87,0	0	0,0
Gruppe II -CHD-	3	16,7	10	55,5	5	27,8
Gruppe III -HTx-	0	0	31	100,0	0	0,0

In der Vergleichsgruppe waren 87% der Fälle, in der GII 55,5% und in der HTx-Gruppe sogar 100% negativ auf die anti-Mannan-Antikörperkonzentration im Serum getestet worden. Dem gegenüber wurde bei jeweils 3 Patienten der Vergleichsgruppe (13%) und der GII (16,7%) eine positive anti-Mannan-Antikörperkonzentration diagnostiziert. Die Gruppe der herzkranken Kinder ohne HTx war mit 5 Patienten (27,8%) die einzige, welche eine fragliche, zwischen 5 und 10 AU/ml, anti-mannan-Antikörperkonzentration im Serum aufwies.

Die grafische Umsetzung der Ergebnisse aus Tabelle 15 erfolgte in Abbildung 31.

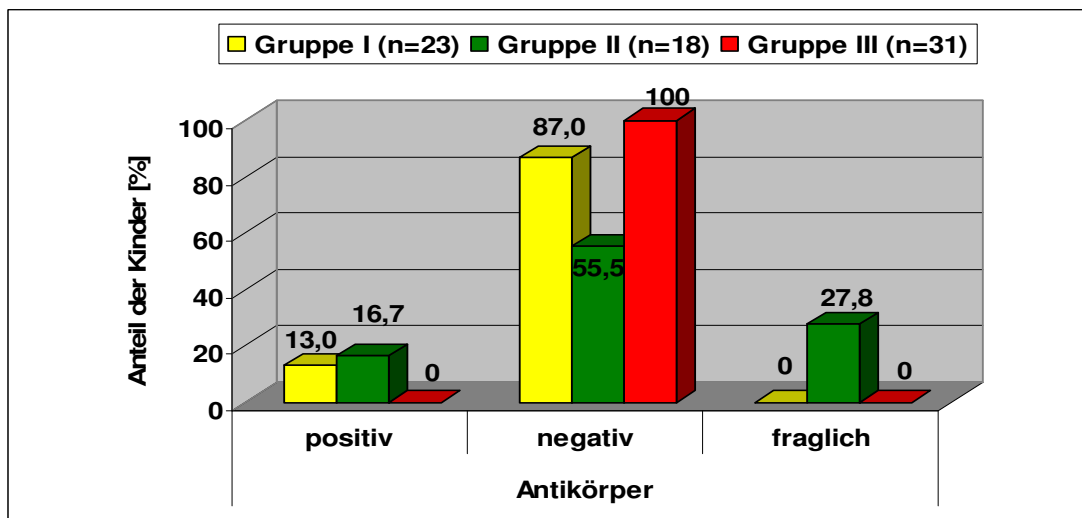


Abb. 34: Candida-anti-Mannan-Antikörper-Nachweis

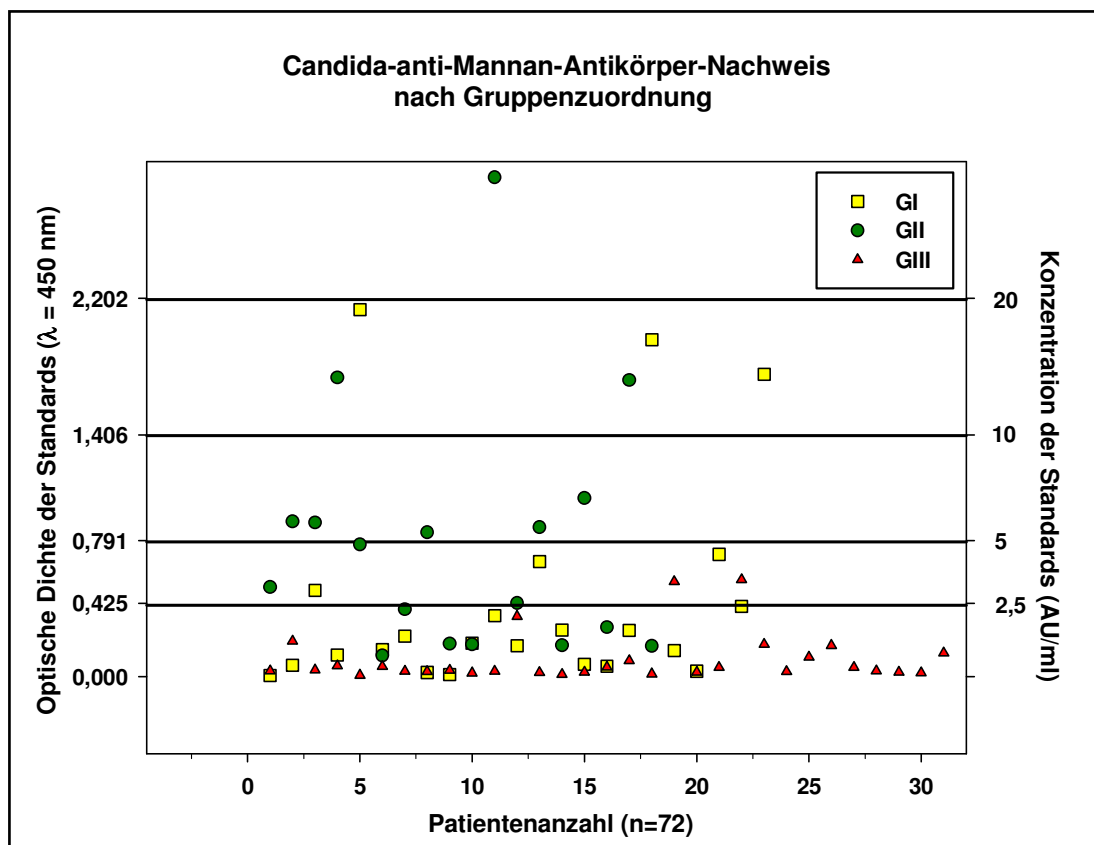


Abb. 33: Quantitative Bestimmung der Candida-anti-Mannan-Antikörperkonzentration

Der statistische Gruppenvergleich ergab für die Häufigkeit der Candida-anti-Mannan-Antikörper im Serum eine Signifikanz von $p=0,02$.

5 Diskussion

In der vorliegenden Arbeit sollte die Candida-Antigen-/Candida-Antikörperkonzentration des Serums sowie die Häufigkeit der Candidabesiedelung der Mundhöhle und des Magen-Darmtraktes bei herzgesunden, endokarditisprophylaxepflichtigen herzkranken (mit CHD) und immunsupprimierten herztransplantierten (HTx) Kindern in Relation zum Kariesstatus untersucht werden. Vorausgegangene Untersuchungen hatten bereits gezeigt, dass bei gesunden Kindern eine positive Korrelation zwischen der oralen und gastrointestinalen Candidabesiedelung besteht [108,109]. Darüber hinaus ergaben sich Hinweise auf eine deszendierende Kolonisationen, indem durch Genotypisierung die genetische Identität der meisten Candida-Isolate aus der Mundhöhle und dem Stuhl nachgewiesen wurde [54]. Dass *Candida albicans* bevorzugt in kariös erweichter Zahnhartsubstanz in hoher Konzentration vorkommt wurde bereits 1993 durch WETZEL et al. beschrieben und 2002 durch AKDENIZ et al. bestätigt [3,123]. Es stellte sich nun die Frage, ob ausgehend von diesen Erkenntnissen, ein Zusammenhang zwischen der gastrointestinalen Candidabesiedelung und dem Nachweis von Candida-Antigenen und -Antikörpern im Serum bei allgemein-gesundheitlich reduzierten Kindern in Abhängigkeit vom Kariesstatus besteht. Unter dieser Zielsetzung wurden Mundhöhle und Magen-Darm-Trakt von herzgesunden, immunsupprimierten (nach HTx) und herzkranken Patienten (mit CHD) auf Candidabefall untersucht und die gefundenen Sprosspilzisolat in einer weiterführenden Arbeit einer Genotypisierung unterzogen. Das Serum der Patienten wurde immunologisch auf Candida-Antigene und -Antikörper (Quantität) untersucht.

Die mikrobiologischen Untersuchungen erstreckten sich nicht nur auf Candida, vielmehr wurden auch die beiden kariogenen Bakterien *Streptococcus mutans* und Laktobazillen mit in die Überprüfung einbezogen. Die vorliegenden Ergebnisse bestätigen vorausgegangene Arbeiten bezüglich der Besiedelung der Mundhöhle mit Laktobazillen und Mutans-Streptokokken bei transplantierten und herzkranken (mit CHD) Kindern [5,42]. So wiesen die CHD-Kinder in 83,3% Laktobazillen und in 91,7% Mutans-Streptokokken im Speichel auf, während dies bei den HTx-Kindern jeweils in 96,8% der Fälle zutraf. Weiterhin reihen sich unsere Ergebnisse bezüglich der vorkommenden Candida Spezies in denen vorangegangener Studien ein, wobei

Candida albicans die am meisten isolierte Spezies war [4,84,128]. Diesbezüglich waren 52 (75,4%) von insgesamt 69 Proben (Speichel-, Plaque-, Stuhl- und Kariesproben) signifikant auf *C. albicans* von uns getestet worden.

Des Weiteren wurden die Gebissbefunde aller Mädchen und Jungen erhoben. Unsere Ergebnisse zeigen, dass von den drei untersuchten Gruppen die Kinder nach HTx zwar günstigere DMF/dmf(T/t)- und dmf(t)-Werte aufwiesen, wobei sich jedoch der dmf(t)-Wert nur aus der d-Komponente („decayed-teeth“) zusammensetzte. Ein klarer Zusammenhang zwischen einer kariösen Erkrankung der Zähne und der Pilzbesiedlung der Mundhöhle wurde bereits in vorausgegangenen Studien belegt [33,76]. Auch AKDENIZ et al. fanden bei 96% aller Kinder mit kariös erkrankten Gebissen, jedoch nur bei 5% der Kinder ohne Karieserfahrung *Candida* in der Mundhöhle [3]. Dies ließ sich auch mit den Ergebnissen der vorliegenden Studie bestätigen. So wiesen die Mädchen und Jungen mit aktueller Karies ($D/d \geq 1$) eine positive Korrelation zwischen der Häufigkeit der Candidabesiedelung der Mundhöhle und dem Kariesstatus auf. Selbige betrug bei den herzgesunden Kindern 75%, bei den herzkranken Kindern ohne HTx 54,5% und bei den Kindern nach HTx sogar 100%. Es ergibt sich daraus der Hinweis der Abhängigkeit der Candidakolonisation der Mundhöhle vom kariösen Gebissbefund der Kinder in allen Gruppen und ein erhöhtes Kariesrisiko für die herztransplantierten Kindern gegenüber den endokarditisprophylaxepflichtigen (mit CHD) und herzgesunden Mädchen und Jungen. Auch AL SHARHEED et al. konnten zeigen, dass bei Kindern nach Herz- und/oder Lungentransplantation gegenüber der Kontrollgruppe signifikante Unterschiede beim Gebissbefund bestanden. Die Transplantierten hatten hier mehr Schmelzdefekte vorzuweisen als die Kontrollgruppe [6].

Auch eine Wechselbeziehung zwischen oraler und faecaler Candidabesiedlung wurde bei sonst gesunden Kindern bereits beschrieben [98,108]. In der Studie von HOSSAIN et al. aus 2003 mit gesunden Kindern ergaben sich schließlich Hinweise auf eine deszendierende Kolonisation aus der Mundhöhle in den Magen-Darm-Trakt, in dem durch Genotypisierung die genetische Identität der meisten *Candida*-Isolate aus der Mundhöhle mit denen aus dem Stuhl nachgewiesen wurden [54]. Auch unsere Untersuchungen lassen auf eine Fortleitung der Candidakeime aus der Mundhöhle sowohl für die Gruppe der Herzgesunden als auch der Herzkranken

ohne HTx schließen. Es wiesen 50% der Vergleichsgruppe und 36,4% der herzkranken (CHD-) Kinder Candida im Stuhl auf, wenn diese Keime zugleich auch in der Mundhöhle nachgewiesen wurden. Dieser Zusammenhang konnte in der HTx-Gruppe allerdings nicht beobachtet werden. Hier hatten zwar alle Kinder mit aktueller Karies auch Candida in der Mundhöhle, jedoch keine Candida Spezies im Stuhl. Dieses Ergebnis erlaubt die Annahme, dass sich die relative Candidabesiedelung des Orointestinaltraktes der HTx-Kinder durchaus von der der Vergleichsgruppe und der herzkranken Kinder ohne HTx unterscheiden kann. Leider gibt es in Bezug auf herztransplantierte Kinder bislang zu dieser Fragestellung bislang keine hinreichend vergleichbaren Untersuchungen, obwohl bei ihnen das Risiko für Infektionen als Folge der Immunsuppression deutlich erhöht ist [118]. Rezidivierende Pilzinfektionen machen bei herztransplantierten Kindern nach SCHOWENGERDT et al. 7% aller Infektionen aus, wobei deren Mortalitätsrate dann sogar bei 52% läge [99]. Weiterhin ist bekannt, dass die Post-Transplantations-Lymphoproliferative-Erkrankung (PTLD) bei organtransplantierten immunsupprimierten Kindern dazu beiträgt, opportunistische Superinfektionen, wie z. B. eine Candidiasis hervorzurufen [65]. Vorangegangene Untersuchungen an Kindern nach Herztransplantation haben bereits gezeigt, wie bedeutsam eine konsequente zahnärztliche Betreuung ist, da die orale Mundflora durch Einnahme von Antimykotika und /oder Immunsuppressiva schnell aus dem Gleichgewicht geraten kann [11]. Auch können Immunsuppressiva die Mundgesundheit zusätzlich durch Bildung von Gingivahyperplasie, Begünstigung oraler Candidiasis und Herpes simplex sowie Xerostomie beeinträchtigen [107]. Pilzinfektionen kommen aber genauso bei Patienten mit angeborenen Herzfehlern (CHD) vor und können bei diesen ebenfalls zu schwerwiegenden Komplikationen, wie zum Beispiel einer infektiösen Endokarditis führen [55]. Aufgrund der dann erschwerten Therapie wurde für diese Kinder bereits gefordert, routinemäßige Speichelproben zur diagnostischen Abklärung einer Besiedelung mit Hefepilzen zu entnehmen [44].

Des Weiteren wurde in dieser Studie die Quantität der Candida-Antigen-/Antikörperkonzentration des Serums für die Gruppen der herzgesunden, herzkranken (ohne HTx) und immunsupprimierten (nach HTx) Kinder in Relation zum Gebissbefund überprüft. KABEN wies bereits 1998 darauf hin, dass bei immunsupprimierten Patienten der Orointestinaltrakt als wichtigstes Keimreservoir

für Candida-Arten anzusehen ist. Hier gelangt die Hefezelle durch Veränderung der Durchlässigkeit des Darmepithels in den Blutstrom [58].

Auch PRELLA et al. konnten zeigen, dass bei vorherrschender Candidakolonisation des Gastrointestinaltraktes diese als Ausgangspunkt für eine invasive Candidiasis anzusehen ist, die dann auch systemische Infektionen, wie z. B. der Leber und der Nieren nach sich ziehen kann [91]. In der vorliegenden Studie konnten wir sowohl Candida-Antigene als auch Candida-Antikörper im Serum der Kinder aus der GI und GII nachweisen. Anders verhielt es sich bei den herztransplantierten Kindern der GIII. Hier ließen sich nur die Antigene, aber keine Antikörper nachweisen, was offensichtlich auf die Immunsuppression zurückzuführen ist. Einen signifikanten Zusammenhang zwischen der Häufigkeit der Candida-Antigene im Serum und dem Kariesstatus konnten wir in den Gruppen allerdings nicht belegen. Auffällig erscheint jedoch, dass wir bei einem Kind aus der GI und 2 Kindern aus der GII mit aktueller Karies ($D/d \geq 1$) auch Candida-Antikörper nachweisen konnten. Es lässt sich somit nicht ausschließen, dass eine deszendierende Candidabesiedelung aus der Mundhöhle über den Gastrointestinaltrakt auch zu einer Candiahäufung im Serum führen kann. Bleibt abzuwarten, ob nachfolgende Untersuchungen diese Vermutung bestätigen werden.

In Bezug auf nicht immunsupprimierte Kinder lässt sich anmerken, dass plötzliche Schwankungen in der gemessenen Antikörperkonzentration ein sicheres Zeichen für das Fortschreiten einer aktiven Infektion darstellen. Dies trifft bei herztransplantierten Kindern aufgrund der Immunsuppression jedoch nicht zu, sodass die Diagnose einer invasiven Candidose bei ihnen erst spät oder gar nicht gestellt bzw. nicht ausgeschlossen werden kann.

Auch in dieser Hinsicht stellt die Vermeidung bzw. frühe Behandlung kariöser Zähne eine wichtige Voraussetzung zur Prävention von Candidabesiedelungen des Gastrointestinaltraktes dar.

6 Zusammenfassung

Ziel der vorliegenden Studie war es, die Candida-Antigen- und Candida-Antikörperkonzentration sowie die Häufigkeit der Candidabesiedelung der Mundhöhle und des Magen-Darmtraktes bei herzgesunden, immunsupprimierten und/oder endokarditisprophylaxepflichtigen Kindern in Relation zum Kariesstatus zu eruieren. Die Genehmigung der Ethik-Kommission des FB-Medizin wurde am 02.09.2004 erteilt.

Es nahmen insgesamt 78 Kinder, 31 HTX- (GIII), 24 CHD- (GII) und 23 herzgesunde Kinder (GI / Vergleichsgruppe), im Alter zwischen 2 und 16 Jahren mit Einverständnis der Eltern teil. Speichel-, Plaque-, Stuhl- und - wenn vorhanden- auch kariös erweichte Zahnhartsubstanzproben wurden mittels Sabouraud- und CHROMTM-Agar und AUXACOLORTM2 Testsystem mikrobiologisch auf Keime der physiologischen Mundflora, *Streptococcus mutans*, Laktobazillen und Candida Spezies untersucht und weiterhin die Candida-Antigen/Antikörper - Quantität mittels PLATELIA[®] - Candida AG/AK-Test bestimmt. Der kariöse Gebissbefund wurde anhand des DMF/dmf(T/t)-Index erfasst. Als Kariesgruppen wurden festgelegt: DMF/dmf(T/t)=0 (naturgesund); DMF/dmf(T/t) \geq 1 (karieserfahren); D/d \geq 1 (aktuelle Karies).

Bei den diagnostizierten Candida Spezies gehörten von insgesamt 69 positiv getesteten Candida Proben 52 (75,4%) der Spezies *C. albicans* an. Weiter waren *C. krusei*, *C. glabrata*, *C. lusitaniae*, *C. dubliniensis* und *C. parapsilosis* vertreten. Zwischen den Patientengruppen bestand kein signifikanter Unterschied bei der Häufigkeit der Candidabesiedelung der Mundhöhle. Demgegenüber unterschied sich die Candidabesiedelung der Stuhlproben mit $p=0,027$ signifikant, wobei Kinder in der GIII seltener Candida (9,7%) aufwiesen als in der GII (29,2%) und der GI (43,5%).

Ferner belegen die Ergebnisse eine positive Korrelation ($p<0,001$) zwischen dem Auftreten einer Candidabesiedelung im Speichel und dem Kariesstatus der Zähne; selbiges wurde auch zwischen einer Candidabesiedelung der Plaque und dem Kariesstatus ($p<0,001$) gefunden. Die Häufigkeit für Candida nahm für die HTx-

Kinder (GIII) in der Mundhöhle von 28,6% (naturgesund), über 66,7% (karieserfahren) auf 100% (aktuelle Karies) zu.

Die Ergebnisse zeigen auch, dass eine positive Candida-Antigenkonzentration im Serum in 13% der Fälle für die Vergleichsgruppe, in 5,5% für die GII und in 16,1% für die HTx-Gruppe (GIII) bestand. Anders verhielt es sich bei der Candida-Antikörperkonzentration. Hier wiesen 13% der Kinder der Vergleichsgruppe und 16,7% der CHD-Gruppe eine positive Antikörperkonzentration auf, während in der HTx-Gruppe dies in keinem Fall nachgewiesen werden konnte. Letzteres ließ sich auf die noch unvermeidliche Immunsuppression bei den herztransplantierten Kindern zurückführen.

Insgesamt lässt sich schließen, dass eine deszendierende Candidabesiedelung aus der Mundhöhle über den Gastrointestinaltrakt auch zu einer Candiahäufung im Serum führen kann. Insofern stellt die Vermeidung bzw. frühe Behandlung kariöser Zähne eine wichtige Voraussetzung zur Prävention von Candidabesiedelungen jedweder Art im menschlichen Organismus dar. Dies gilt dann insbesondere für herztransplantierte Kinder, da bei ihnen in Fällen von Candida-Antigen im Serum die Bildung der Antikörper unterbleibt und aufgrund der Immunsuppression die Gefahr besteht, dass die Diagnose einer invasiven Candidose erst zu spät gestellt oder nicht ausgeschlossen werden kann.

7 Summary

The aim of this study was to determine the serum concentration of *Candida*-antigen/-antibody and the incidence of oral and intestinal *Candida* colonisation in children with healthy hearts, in immunosuppressed children and in children with congenital heart disease according to their dental status. The permission from the ethics committee of the Faculty of Medicine (University Giessen) is dated 2nd September 2004.

A total of 78 children aged between 2 and 16 years were examined, including 31 HTx- (GIII), 24 CHD- (GII) and 23 children with healthy hearts (GI / comparison group). Written consent was obtained from the parents. Mutans streptococcus, lactobacilli, specimen from physiological oral flora and *Candida* species in saliva, dental plaque, carious lesions (if any) and stool were detected with conventional microbiological SABOURAUD- /CHROMagar and with the AUXACOLORTM2 system. The commercial PLATELIA[®] - *Candida*-specific antigen/antibody assays were used for serological diagnosis. We then determined the dental status on the basis of the DMF/dmf(T/t)-index on the following caries categories: DMF/dmf(T/t)=0 (healthy dentition); DMF/dmf(T/t) ≥1 (rehabilitated dentition); D/d(T/t) ≥1 (carious dentition).

Candida albicans was the most detected yeast with 52 (75,4%) of 69 *Candida albicans* samples testing positive. Microbiological analysis revealed several *Candida* species, such as *Candida albicans*, *Candida dubliniensis*, *Candida glabrata*, *Candida krusei* and *Candida lusitanae*. There was no significant difference between the three groups in terms of *Candida* colonisation in the oral cavity. On the other hand, there were significant differences ($p=0,027$) between the groups in terms of *Candida* colonisation in stool specimens; here, group III had the fewest *Candida* colonisation in stool specimens (9,7%) compared to GII (29,2%) and GIII (43,5%). Furthermore, significant correlations with $p<0,001$ between the incidence of *Candida* in saliva and dental status and between plaque and dental status were indicated. In relation to dental status, oral *Candida* colonisation increased within group III from 28,5% (healthy dentition) to 66,7% (rehabilitated dentition) up to 100% (carious dentition).

Our results show, that *Candida*-antigen concentration was determinate positive in 16,1% (HTx), 5,5% (CHD) and 13% (comparison group) other than the *Candida*-antibody concentration. Here, a positive *Candida*-antibody concentration was diagnosed in 13% of cases in the comparison group and 16,7% of patients in the CHD group but not in group III (HTx), obviously as a consequence of the immunosuppression.

We assume that high oral *Candida* and their descending/resorption over the gastrointestinal tract may lead to serological *Candida* accumulation. Therefore, healthy oral cavity is an important precondition for preventing any *Candida* colonisation in vivo. This applies especially in children after HTx, because in cases of positive *Candida*-antigen concentration there is no *Candida*-antibody accumulation due to their immunosuppression. Therefore, an invasive candidiasis is diagnosed too late or cannot be excluded.

8 Literaturverzeichnis

1. Abbott, M.E.: Atlas of Congenital Cardiac Disease. New York, NY: American Heart Association (1936)
2. Abramowicz, D., Wissing, K.M., Broeders, N.: Nephrotoxicity of calcineurin inhibitors: new therapeutic approaches. *Transplant Proc* 32, 3S-5S (2000)
3. Akdeniz, B.G., Koparal, E., Sen, B.H., Ates, M., Denizci, A.A.: Prevalence of *Candida albicans* in oral cavities and root canals of children. *ASDC J Dent Child* 69, 289-92, 235 (2002)
4. Akpan, A., Morgan, R.: Oral candidiasis. *Postgrad Med J* 78, 455-459 (2002)
5. Al Nowaiser, A., Lucas, V.S., Wilson, M., Roberts, G.J., Trompeter, R.S.: Oral health and caries related microflora in children during the first three months following renal transplantation. *Int J Paediatr Dent* 14, 118-126 (2004)
6. al Sarheed, M., Angeletou, A., Ashley, P.F., Lucas, V.S., Whitehead, B., Roberts, G.J.: An investigation of the oral status and reported oral care of children with heart and heart-lung transplants. *Int J Paediatr Dent* 10, 298-305 (2000)
7. Alabdulgader, A.A.: Congenital heart disease in Saudi Arabia: current epidemiology and future projections. *East Mediterr Health J* 12 Suppl 2, S157-S167 (2006)
8. Almirante, B., Rodriguez, D., Cuenca-Estrella, M., Almela, M., Sanchez, F., Ayats, J., Alonso-Tarres, C., Rodriguez-Tudela, J.L., Pahissa, A.: Epidemiology, risk factors, and prognosis of *Candida parapsilosis* bloodstream infections: case-control population-based surveillance study of patients in Barcelona, Spain, from 2002 to 2003. *J Clin Microbiol* 44, 1681-1685 (2006)

9. Almirante, B., Rodriguez, D., Park, B.J., Cuenca-Estrella, M., Planes, A.M., Almela, M., Mensa, J., Sanchez, F., Ayats, J., Gimenez, M., Saballs, P., Fridkin, S.K., Morgan, J., Rodriguez-Tudela, J.L., Warnock, D.W., Pahissa, A.: Epidemiology and predictors of mortality in cases of *Candida* bloodstream infection: results from population-based surveillance, Barcelona, Spain, from 2002 to 2003. *J Clin Microbiol* 43, 1829-1835 (2005)
10. Alonso-Valle, H., Acha, O., Garcia-Palomo, J.D., Farinas-Alvarez, C., Fernandez-Mazarrasa, C., Farinas, M.C.: Candidemia in a tertiary care hospital: epidemiology and factors influencing mortality. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 22, 254-257 (2003)
11. Ansari, F., Ferring, V., Schulz-Weidner, N., Wetzel, W.E.: Concomitant oral findings in children after cardiac transplant. *Pediatr Transplant* 10, 215-219 (2006)
12. Ashman, R.B.: *Candida albicans*: pathogenesis, immunity and host defence. *Res Immunol* 149, 281-288 (1998)
13. Axell, T., Samaranayake, L.P., Reichart, P.A., Olsen, I.: A proposal for reclassification of oral candidosis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 84, 111-112 (1997)
14. Babcock, G.J., Decker, L.L., Freeman, R.B., Thorley-Lawson, D.A.: Epstein-barr virus-infected resting memory B cells, not proliferating lymphoblasts, accumulate in the peripheral blood of immunosuppressed patients. *J Exp Med* 190, 567-576 (1999)
15. Baspinar, O., Karaaslan, S., Oran, B., Baysal, T., Elmaci, A.M., Yorulmaz, A.: Prevalence and distribution of children with congenital heart diseases in the central Anatolian region, Turkey. *Turk J Pediatr* 48, 237-243 (2006)

16. Bauer, J., Thul, J., Kramer, U., Hagel, K.J., Akinturk, H., Valeske, K., Schindler, E., Bohle, R.M., Schranz, D.: Heart transplantation in children and infants: short-term outcome and long-term follow-up. *Pediatr Transplant* 5, 457-462 (2001)
17. Baume, L.J.: Allgemeine Grundsätze für eine internationale Normung der Karies-Statistiken (Fédération Dentaire Internationale). *Int Dent J* 12, 279-289 (1962)
18. Beighton, D., Ludford, R., Clark, D.T., Brailsford, S.R., Pankhurst, C.L., Tinsley, G.F., Fiske, J., Lewis, D., Daly, B., Khalifa, N.: Use of CHROMagar Candida medium for isolation of yeasts from dental samples. *J Clin Microbiol* 33, 3025-3027 (1995)
19. Beland, M.J., Franklin, R.C., Jacobs, J.P., Tchervakov, C.I., Aiello, V.D., Colan, S.D., Gaynor, J.W., Krogmann, O.N., Kurosawa, H., Maruszewski, B., Stellin, G., Weinberg, P.M.: Update from the International Working Group for Mapping and Coding of Nomenclatures for Paediatric and Congenital Heart Disease. *Cardiol Young* 14, 225-229 (2004)
20. Beland, M.J., Jacobs, J.P., Tchervakov, C.I., Franklin, R.C.: Report from the Executive of The International Working Group for Mapping and Coding of Nomenclatures for Paediatric and Congenital Heart Disease. *Cardiol Young* 12, 425-430 (2002)
21. Berger, U., Hummel, K.: Einführung in die Mikrobiologie und Immunologie. Urban & Schwarzenberg, München - Berlin 2. Auflage (1964)
22. Bernal, S., Martin, M.E., Garcia, M., Aller, A.I., Martinez, M.A., Gutierrez, M.J.: Evaluation of CHROMagar Candida medium for the isolation and presumptive identification of species of Candida of clinical importance. *Diagn Microbiol Infect Dis* 24, 201-204 (1996)

23. Birkeland, S.A., Andersen, H.K., Hamilton-Dutoit, S.J.: Preventing acute rejection, Epstein-Barr virus infection, and posttransplant lymphoproliferative disorders after kidney transplantation: use of aciclovir and mycophenolate mofetil in a steroid-free immunosuppressive protocol. *Transplantation* 67, 1209-1214 (1999)
24. Blot, S., Vandewoude, K.: Management of invasive candidiasis in critically ill patients. *Drugs* 64, 2159-2175 (2004)
25. Boltchi, F.E., Rees, T.D., Iacopino, A.M.: Cyclosporine A-induced gingival overgrowth: a comprehensive review. *Quintessence Int* 30, 775-783 (1999)
26. Bruatto, M., Vidotto, V., Marinuzzi, G., Raiteri, R., Sinicco, A.: *Candida albicans* biotypes in human immunodeficiency virus type 1-infected patients with oral candidiasis before and after antifungal therapy. *J Clin Microbiol* 29, 726-730 (1991)
27. Buchaille, L., Freydiere, A.M., Guinet, R., Gille, Y.: Evaluation of six commercial systems for identification of medically important yeasts. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 17, 479-488 (1998)
28. Campbell, C.K., Davey, K.G., Holmes, A.D., Szekely, A., Warnock, D.W.: Comparison of the API *Candida* system with the AUXACOLOR system for identification of common yeast pathogens. *J Clin Microbiol* 37, 821-823 (1999)
29. Cavassani, M., Eggimann, P., Moreillon, P., Francioli, P.: Die infektiöse Endokarditis (Teil 2). *Schweiz Med Forum* 34, 781-788 (2002)
30. Colomba, C., Antinori, S.: Fungal infections in transplantation patients [Article in Italian]. *Recenti Prog Med* 94, 516-528 (2003)
31. Dannewitz, B., Krigar, D.: Medikamentös induzierte Gingivawucherungen - Ätiologie und Therapie. *ZMK Magazin* 22, 354-364 (2006)

32. Davey, K.G., Chant, P.M., Downer, C.S., Campbell, C.K., Warnock, D.W.: Evaluation of the AUXACOLOR system, a new method of clinical yeast identification. *J Clin Pathol* 48, 807-809 (1995)
33. de Carvalho, F.G., Silva, D.S., Hebling, J., Spolidorio, L.C., Spolidorio, D.M.: Presence of mutans streptococci and *Candida* spp. in dental plaque/dentine of carious teeth and early childhood caries. *Arch Oral Biol* 51, 1024-1028 (2006)
34. de Pauw, B.E.: Advances in the management of invasive fungal infections in organ transplant recipients: step by step. *Transpl Infect Dis* 2, 48-50 (2000)
35. Dotti, G., Fiocchi, R., Motta, T., Gamba, A., Gotti, E., Gridelli, B., Borleri, G., Manzoni, C., Viero, P., Remuzzi, G., Barbui, T., Rambaldi, A.: Epstein-Barr virus-negative lymphoproliferate disorders in long-term survivors after heart, kidney, and liver transplant. *Transplantation* 69, 827-833 (2000)
36. Ellis, D.: Amphotericin B: spectrum and resistance. *J Antimicrob Chemother* 49 Suppl 1, 7-10 (2002)
37. Ellis, J.S., Seymour, R.A., Taylor, J.J., Thomason, J.M.: Prevalence of gingival overgrowth in transplant patients immunosuppressed with tacrolimus. *J Clin Periodontol* 31, 126-131 (2004)
38. Fireman, M., DiMartini, A.F., Armstrong, S.C., Cozza, K.L.: Immunosuppressants. *Psychosomatics* 45, 354-360 (2004)
39. Folwaczny, M., Hickel, R.: Aspects of dental care of immunosuppressed patients - I [Article in French, German]. *Schweiz Monatsschr Zahnmed* 111, 1201-1224 (2001)
40. Folwaczny, M., Hickel, R.: Aspects of dental care of immunosuppressed patients - II. Organ transplantation [Article in French, German]. *Schweiz Monatsschr Zahnmed* 111, 1317-1332 (2001)

41. Folwaczny, M., Hickel, R.: Orale Infektionen bei Patienten mit Immunsuppression. Dtsch Zahnärztl Z 57, 455-461 (2002)
42. Franco, E., Saunders, C.P., Roberts, G.J., Suwanprasit, A.: Dental disease, caries related microflora and salivary IgA of children with severe congenital cardiac disease: an epidemiological and oral microbial survey. Pediatr Dent 18, 228-235 (1996)
43. Gao, S.Z., Chaparro, S.V., Perlroth, M., Montoya, J.G., Miller, J.L., DiMiceli, S., Hastie, T., Oyer, P.E., Schroeder, J.: Post-transplantation lymphoproliferative disease in heart and heart-lung transplant recipients: 30-year experience at Stanford University. J Heart Lung Transplant 22, 505-514 (2003)
44. Garcia-San Miguel, L., Cobo, J., Martos, I., Otheo, E., Muriel, A., Pintado, V., Moreno, S.: Risk factors for candidemia in pediatric patients with congenital heart disease. Infect Control Hosp Epidemiol 27, 576-580 (2006)
45. George, M.J., Snyderman, D.R., Werner, B.G., Griffith, J., Falagas, M.E., Dougherty, N.N., Rubin, R.H.: The independent role of cytomegalovirus as a risk factor for invasive fungal disease in orthotopic liver transplant recipients. Boston Center for Liver Transplantation CMVIG-Study Group. Cytogam, MedImmune, Inc. Gaithersburg, Maryland. Am J Med 103, 106-113 (1997)
46. Glasmacher, A., Marklein, G., Just-Nubling, G., Leutner, C., Ewig, S.: Diagnosis of invasive mycoses in neutropenic patients with systemic hematologic diseases [Article in German]. Dtsch Med Wochenschr 123, 157-160 (1998)
47. Gorg, C., Weide, R., Schwerek, W.B., Koppler, H., Havemann, K.: Ultrasound evaluation of hepatic and splenic microabscesses in the immunocompromised patient: sonographic patterns, differential diagnosis, and follow-up. J Clin Ultrasound 22, 525-529 (1994)

48. Grossi, P., Farina, C., Fiocchi, R., Dalla, G.D.: Prevalence and outcome of invasive fungal infections in 1,963 thoracic organ transplant recipients: a multicenter retrospective study. Italian Study Group of Fungal Infections in Thoracic Organ Transplant Recipients. *Transplantation* 70, 112-116 (2000)
49. Henderson, B., Wilson, M.: Commensal communism and the oral cavity. *J Dent Res* 77, 1674-1683 (1998)
50. Herent, P., Styne, D., Hernando, F., Fruit, J., Poulain, D.: Retrospective evaluation of two latex agglutination tests for detection of circulating antigens during invasive candidosis. *J Clin Microbiol* 30, 2158-2164 (1992)
51. Holzheimer, R.G., Dralle, H.: Management of mycoses in surgical patients - review of the literature. *Eur J Med Res* 7, 200-226 (2002)
52. Hoppe, J.E.: Treatment of oropharyngeal candidiasis and candidal diaper dermatitis in neonates and infants: review and reappraisal. *Pediatr Infect Dis J* 16, 885-894 (1997)
53. Hoppe, J.E., Frey, P.: Evaluation of six commercial tests and the germ-tube test for presumptive identification of *Candida albicans*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 18, 188-191 (1999)
54. Hossain, H., Ansari, F., Schulz-Weidner, N., Wetzel, W.E., Chakraborty, T., Domann, E.: Clonal identity of *Candida albicans* in the oral cavity and the gastrointestinal tract of pre-school children. *Oral Microbiol Immunol* 18, 302-308 (2003)
55. Ishiwada, N., Niwa, K., Tateno, S., Yoshinaga, M., Terai, M., Nakazawa, M.: Causative organism influences clinical profile and outcome of infective endocarditis in pediatric patients and adults with congenital heart disease. *Circ J* 69, 1266-1270 (2005)

56. Iyampillai, T., Michael, J.S., Mathai, E., Mathews, M.S.: Use of CHROMagar medium in the differentiation of *Candida* species: is it cost-effective in developing countries? *Ann Trop Med Parasitol* 98, 279-282 (2004)
57. Johnson, T.L., Barnett, J.L., Appelman, H.D., Nostrant, T.: *Candida* hepatitis. Histopathologic diagnosis. *Am J Surg Pathol* 12, 716-720 (1988)
58. Kaben, U.: Fungal infection [Article in German]. *Chirurg* 69, 530-535 (1998)
59. Kaemmerer, H., Hess, J.: Adult patients with congenital heart abnormalities: present and future [Article in German]. *Dtsch Med Wochenschr* 130, 97-101 (2005)
60. Katz, B.Z., Pahl, E., Crawford, S.E., Kostyk, M.C., Rodgers, S., Seshadri, R., Proytcheva, M., Pophal, S.: Case-control study of risk factors for the development of post-transplant lymphoproliferative disease in a pediatric heart transplant cohort. *Pediatr Transplant* 11, 58-65 (2007)
61. Knirsch, W., Hassberg, D., Beyer, A., Teufel, T., Pees, C., Uhlemann, F., Lange, P.E.: Knowledge, compliance and practice of antibiotic endocarditis prophylaxis of patients with congenital heart disease. *Pediatr Cardiol* 24, 344-349 (2003)
62. Kovacicova, G., Hanzen, J., Pisarcikova, M., Sejnova, D., Horn, J., Babela, R., Svetlansky, I., Lovaszova, M., Gogova, M., Krcmery, V.: Nosocomial fungemia due to amphotericin B-resistant *Candida* spp. in three pediatric patients after previous neurosurgery for brain tumors. *J Infect Chemother* 7, 45-48 (2001)
63. Kreter, F., Pantke, H.: Einführung in die Zahnheilkunde mit Grenzinformationen. Quintessenz (1979)
64. Kullberg, B.J., Oude Lashof, A.M.: Epidemiology of opportunistic invasive mycoses. *Eur J Med Res* 7, 183-191 (2002)

65. Lai, Y.C., Ni, Y.H., Jou, S.T., Ho, M.C., Wu, J.F., Chen, H.L., Hu, R.H., Jeng, Y.M., Chang, M.H., Lee, P.H.: Post-transplantation lymphoproliferative disorders localizing to the gastrointestinal tract after liver transplantation: report of five pediatric cases. *Pediatr Transplant* 10, 390-394 (2006)
66. Land, W.: Future challenges in immunosuppression. *Transplant Proc* 30, 1580-1584 (1998)
67. Land, W.: Satellite Symposium of the 9th Congress of the European Society for Organ Transplantation, Oslo, Norway. From Immunosuppression to Tolerance: Visions of the Future. Foreword. *Transplant Proc* 32, 1S-15S (2000)
68. Leblond, V., Davi, F., Charlotte, F., Dorent, R., Bitker, M.O., Sutton, L., Gandjbakhch, I., Binet, J.L., Raphael, M.: Posttransplant lymphoproliferative disorders not associated with Epstein-Barr virus: a distinct entity? *J Clin Oncol* 16, 2052-2059 (1998)
69. Lehner, T.: Oral candidosis. *Dent Pract Dent Rec* 17, 209-216 (1967)
70. Liebowitz, D.: Epstein-Barr virus and a cellular signaling pathway in lymphomas from immunosuppressed patients. *N Engl J Med* 338, 1413-1421 (1998)
71. Lode, H., Hoffken, G.: Oral candidosis and its role in immunocompromised patients. *Mycoses* 32 Suppl 2, 30-33 (1989)
72. Lüscher, T.F., Greutmann, M., Prêtre, R.: Erwachsene mit kongenitalen Vitien - eine neue Herausforderung für die Kardiologie. *Kardiovaskuläre Medizin* 9, 296-301 (2006)
73. Marr, K.A., Seidel, K., White, T.C., Bowden, R.A.: Candidemia in allogeneic blood and marrow transplant recipients: evolution of risk factors after the adoption of prophylactic fluconazole. *J Infect Dis* 181, 309-316 (2000)

74. Masia, C.M., Gutierrez, R.F.: Antifungal drug resistance to azoles and polyenes. *Lancet Infect Dis* 2, 550-563 (2002)
75. Min, D.I., Monaco, A.P.: Complications associated with immunosuppressive therapy and their management. *Pharmacotherapy* 11, 119S-125S (1991)
76. Moalic, E., Gestalin, A., Quinio, D., Gest, P.E., Zerilli, A., Le Flohic, A.M.: The extent of oral fungal flora in 353 students and possible relationships with dental caries. *Caries Res* 35, 149-155 (2001)
77. Monshizadeh, R., Sands, R.E., Lara, W.C., Driebe, W.: Isolated anterior uveitis as the initial sign of systemic candidemia. *Arch Ophthalmol* 121, 137-138 (2003)
78. Naber, C.K., Al-Nawas, B., Baumgartner, H., Becker, H.-J., Block, M., Erbel, R., Ertl, G., Flückiger, U., Franzen, D., Gohlke-Bärwolf, C., Gattringer, R., Graininger, W., Handrick, W., Herrmann, M., Heying, R., Horstkotte, D., Jaussi, A., Kern, P., Kramer, H.-H., Kühl, S., Lepper, P.M., Leyh, R.G., Lode, H., Mehlhorn, U., Moreillon, P., Mügge, A., Mutters, R., Niebel, J., Peters, G., Rosenhek, R., Schmaltz, A.A., Seifert, H., Shah, P.M., Sitter, H., Wagner, W., Wahl, G., Werdan, K., Zuber, M.: Prophylaxe der infektiösen Endokarditis. *Der Kardiologe* 1, 243-250 (2007)
79. Nelson, B.P., Nalesnik, M.A., Bahler, D.W., Locker, J., Fung, J.J., Swerdlow, S.H.: Epstein-Barr virus-negative post-transplant lymphoproliferative disorders: a distinct entity? *Am J Surg Pathol* 24, 375-385 (2000)
80. Nikawa, H., Yamashiro, H., Makihiro, S., Nishimura, M., Egusa, H., Furukawa, M., Setijanto, D., Hamada, T.: In vitro cariogenic potential of *Candida albicans*. *Mycoses* 46, 471-478 (2003)
81. Odds, F.C.: *Candida* infections: an overview. *Crit Rev Microbiol* 15, 1-5 (1987)
82. Odds, F.C.: Sabouraud('s) agar. *J Med Vet Mycol* 29, 355-359 (1991)

83. Odds, F.C., Bernaerts, R.: CHROMagar Candida, a new differential isolation medium for presumptive identification of clinically important Candida species. *J Clin Microbiol* 32, 1923-1929 (1994)
84. Odds, F.C., Hanson, M.F., Davidson, A.D., Jacobsen, M.D., Wright, P., Whyte, J.A., Gow, N.A., Jones, B.L.: One year prospective survey of Candida bloodstream infections in Scotland. *J Med Microbiol* 56, 1066-1075 (2007)
85. Oertel, S.H., Verschuuren, E., Reinke, P., Zeidler, K., Papp-Vary, M., Babel, N., Trappe, R.U., Jonas, S., Hummel, M., Anagnostopoulos, I., Dorken, B., Riess, H.B.: Effect of anti-CD 20 antibody rituximab in patients with post-transplant lymphoproliferative disorder (PTLD). *Am J Transplant* 5, 2901-2906 (2005)
86. Oliveri, S., Trovato, L., Betta, P., Romeo, M.G., Nicoletti, G.: Experience with the Platelia Candida ELISA for the diagnosis of invasive candidosis in neonatal patients. *Clin Microbiol Infect* (2008)
87. Paya, C.V.: Fungal infections in solid-organ transplantation. *Clin Infect Dis* 16, 677-688 (1993)
88. Paya, C.V.: Prevention of fungal and hepatitis virus infections in liver transplantation. *Clin Infect Dis* 33 Suppl 1, S47-S52 (2001)
89. Pfaller, M.A., Jones, R.N., Doern, G.V., Sader, H.S., Hollis, R.J., Messer, S.A.: International surveillance of bloodstream infections due to Candida species: frequency of occurrence and antifungal susceptibilities of isolates collected in 1997 in the United States, Canada, and South America for the SENTRY Program. The SENTRY Participant Group. *J Clin Microbiol* 36, 1886-1889 (1998)
90. Plouffe, J.F., Brown, D.G., Silva, J., Jr., Eck, T., Stricof, R.L., Fekety, F.R., Jr.: Nosocomial outbreak of Candida parapsilosis fungemia related to intravenous infusions. *Arch Intern Med* 137, 1686-1689 (1977)

91. Prella, M., Bille, J., Pugnale, M., Duvoisin, B., Cavassini, M., Calandra, T., Marchetti, O.: Early diagnosis of invasive candidiasis with mannan antigenemia and antimannan antibodies. *Diagn Microbiol Infect Dis* 51, 95-101 (2005)
92. Redding, S.W., Dahiya, M.C., Kirkpatrick, W.R., Coco, B.J., Patterson, T.F., Fothergill, A.W., Rinaldi, M.G., Thomas, C.R., Jr.: *Candida glabrata* is an emerging cause of oropharyngeal candidiasis in patients receiving radiation for head and neck cancer. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 97, 47-52 (2004)
93. Redding, S.W., Marr, K.A., Kirkpatrick, W.R., Coco, B.J., Patterson, T.F.: *Candida glabrata* sepsis secondary to oral colonization in bone marrow transplantation. *Med Mycol* 42, 479-481 (2004)
94. Redding, S.W., Zellars, R.C., Kirkpatrick, W.R., McAtee, R.K., Caceres, M.A., Fothergill, A.W., Lopez-Ribot, J.L., Bailey, C.W., Rinaldi, M.G., Patterson, T.F.: Epidemiology of oropharyngeal *Candida* colonization and infection in patients receiving radiation for head and neck cancer. *J Clin Microbiol* 37, 3896-3900 (1999)
95. Rieth, H.: Mycoses and antimycotics. I. Mycoses of the skin, mucous membrane and inner organs [Article in German]. *Pharm Unserer Zeit* 8, 161-178 (1979)
96. Romney, M.G., Bryce, E.A., Rennie, R.P., Sand, C.A.: Rapid identification of clinical yeast isolates using the colorimetric AUXACOLOR system. *Diagn Microbiol Infect Dis* 36, 137-138 (2000)
97. Rupf, S., Jentsch, H., Eschrich, K.: Mikroorganismen und orale Erkrankungen: Lebensraum Mundhöhle. *Biol Unserer Zeit* 37, 51-59 (2007)
98. Sandven, P., Qvist, H., Skovlund, E., Giercksky, K.E.: Significance of *Candida* recovered from intraoperative specimens in patients with intra-abdominal perforations. *Crit Care Med* 30, 541-547 (2002)

99. Schowengerdt, K.O., Naftel, D.C., Seib, P.M., Pearce, F.B., Addonizio, L.J., Kirklin, J.K., Morrow, W.R.: Infection after pediatric heart transplantation: results of a multiinstitutional study. The Pediatric Heart Transplant Study Group. *J Heart Lung Transplant* 16, 1207-1216 (1997)
100. Sendid, B., Caillot, D., Baccouch-Humbert, B., Klingspor, L., Grandjean, M., Bonnin, A., Poulain, D.: Contribution of the Platelia Candida-specific antibody and antigen tests to early diagnosis of systemic *Candida tropicalis* infection in neutropenic adults. *J Clin Microbiol* 41, 4551-4558 (2003)
101. Sendid, B., Lacroix, C., Bougnoux, M.E.: Is *Candida kefyr* an emerging pathogen in patients with oncohematological diseases? *Clin Infect Dis* 43, 666-667 (2006)
102. Sendid, B., Poirot, J.L., Tabouret, M., Bonnin, A., Caillot, D., Camus, D., Poulain, D.: Combined detection of mannanaemia and antimannan antibodies as a strategy for the diagnosis of systemic infection caused by pathogenic *Candida* species. *J Med Microbiol* 51, 433-442 (2002)
103. Sendid, B., Tabouret, M., Poirot, J.L., Mathieu, D., Fruit, J., Poulain, D.: New enzyme immunoassays for sensitive detection of circulating *Candida albicans* mannan and antimannan antibodies: useful combined test for diagnosis of systemic candidiasis. *J Clin Microbiol* 37, 1510-1517 (1999)
104. Shumakov, V.I., Kazakov, E.N., Khubutiia, A.S., Kormer, A.I., Mogilevskii, G.M., Giorgadze, O.A., Gabrielian, N.I., Smirnova, I.V.: Infectious complications following heart transplantation [Article in Russian]. *Grud Serdechnosudistaia Khir*, 3-5 (1991)
105. Sobh, M.A., Hamdy, A.F., El Agroudy, A.E., El Sayed, K., El Diasty, T., Bakr, M.A., Ghoneim, M.A.: Coadministration of ketoconazole and cyclosporine for kidney transplant recipients: long-term follow-up and study of metabolic consequences. *Am J Kidney Dis* 37, 510-517 (2001)

106. Spellberg, B.J., Filler, S.G., Edwards, J.E., Jr.: Current treatment strategies for disseminated candidiasis. *Clin Infect Dis* 42, 244-251 (2006)
107. Spolidorio, L.C., Spolidorio, D.M., Massucato, E.M., Neppelenbroek, K.H., Campanha, N.H., Sanches, M.H.: Oral health in renal transplant recipients administered cyclosporin A or tacrolimus. *Oral Dis* 12, 309-314 (2006)
108. Sziegoleit, F., Sziegoleit, A., Wetzel, W.E.: Effect of dental treatment and/or local application of amphotericin B to carious teeth on oral colonization by *Candida*. *Med Mycol* 37, 345-350 (1999)
109. Sziegoleit, F., Weidner, N., Sziegoleit, A., Wetzel, W.-E.: Candidabesiedlung der Mundhöhle und des Magen-Darm-Traktes. *Deutsche Zahnärztliche Zeitschrift* 57, 349-352 (2002)
110. Uip, D.E., Amato, N., V, Varejao Strabelli, T.M., Alcides, B.E., Fiorelli, A., Stolf, N., Bellotti, G., Pileggi, F., Jatene, A.D.: Fungal infections in 100 patients subjected to heart transplantation [Article in Portuguese]. *Arq Bras Cardiol* 66, 65-67 (1996)
111. Uip, D.E., Neto, V.A., Strabelli, T.M., Bocchi, E.A., Pileggi, F., Jatene, A.D., Stolf, N., Fiorelli, A., Bellotti, G.: Infective endocarditis in 100 patients subjected to heart transplantation [Article in Portuguese]. *Arq Bras Cardiol* 66, 1-3 (1996)
112. Vanden Bossche, H., Marichal, P., Odds, F.C., Le Jeune, L., Coene, M.C.: Characterization of an azole-resistant *Candida glabrata* isolate. *Antimicrob Agents Chemother* 36, 2602-2610 (1992)
113. Verma, A., Wade, J.J., Cheeseman, P., Samaroo, B., Rela, M., Heaton, N.D., Mieli-Vergani, G., Dhawan, A.: Risk factors for fungal infection in paediatric liver transplant recipients. *Pediatr Transplant* 9, 220-225 (2005)

114. Vilchez, R.A., Kusne, S.: Molecular and clinical perspectives of polyomaviruses: emerging evidence of importance in non-kidney transplant populations. *Liver Transpl* 12, 1457-1463 (2006)
115. Viscoli, C., Girmenia, C., Marinus, A., Collette, L., Martino, P., Vandercam, B., Doyen, C., Lebeau, B., Spence, D., Krcmery, V., de Pauw, B., Meunier, F.: Candidemia in cancer patients: a prospective, multicenter surveillance study by the Invasive Fungal Infection Group (IFIG) of the European Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC). *Clin Infect Dis* 28, 1071-1079 (1999)
116. Vogel, M., Knirsch, W., Lange, P.E.: Severe complications caused by inattention to endocarditis prevention during dental procedures in adults with congenital heart abnormalities [Article in German]. *Dtsch Med Wochenschr* 125, 344-347 (2000)
117. Wagner, J.A., Ross, H., Hunt, S., Gamberg, P., Valantine, H., Merigan, T.C., Stinson, E.B.: Prophylactic ganciclovir treatment reduces fungal as well as cytomegalovirus infections after heart transplantation. *Transplantation* 60, 1473-1477 (1995)
118. Webber, S.A., McCurry, K., Zeevi, A.: Heart and lung transplantation in children. *Lancet* 368, 53-69 (2006)
119. Wegmann, T.: Treatment of systemic mycosis [Article in German]. *Infection* 1, 88-91 (1973)
120. Weinberger, M., Leibovici, L., Perez, S., Samra, Z., Ostfeld, I., Levi, I., Bash, E., Turner, D., Goldschmied-Reouven, A., Regev-Yochay, G., Pitlik, S.D., Keller, N.: Characteristics of candidaemia with *Candida-albicans* compared with non-*albicans* *Candida* species and predictors of mortality. *J Hosp Infect* 61, 146-154 (2005)

121. Wetzel, W.E.: Erkrankungen der Zähne, Zahndurchbruch und Wurzelbildung. In: Niessen KH (Hrsg). Pädiatrie 6. Auflage, Georg Thieme, Stuttgart - New York (2001)
122. Wetzel, W.E., Böhmer, C., Sziegoleit, A.: In-Vitro-Karies durch *Candida albicans*. Acta Med Dent Helv 2, 308-313 (1997)
123. Wetzel, W.E., Hanisch, S., Sziegoleit, A.: The germ colonization of the oral cavity in small children with the nursing bottle syndrome [Article in German]. Schweiz Monatsschr Zahnmed 103, 1107-1112 (1993)
124. Wilson, W., Taubert, K.A., Gewitz, M., Lockhart, P.B., Baddour, L.M., Levison, M., Bolger, A., Cabell, C.H., Takahashi, M., Baltimore, R.S., Newburger, J.W., Strom, B.L., Tani, L.Y., Gerber, M., Bonow, R.O., Pallasch, T., Shulman, S.T., Rowley, A.H., Burns, J.C., Ferrieri, P., Gardner, T., Goff, D., Durack, D.T.: Prevention of infective endocarditis: guidelines from the American Heart Association: a guideline from the American Heart Association Rheumatic Fever, Endocarditis, and Kawasaki Disease Committee, Council on Cardiovascular Disease in the Young, and the Council on Clinical Cardiology, Council on Cardiovascular Surgery and Anesthesia, and the Quality of Care and Outcomes Research Interdisciplinary Working Group. Circulation 116, 1736-1754 (2007)
125. Wooley, C.F., Miller, P.J.: William Osler, Maude Abbott, Paul Dudley White, and Helen Taussig: the origins of congenital heart disease in North America. Am Heart Hosp J 6, 51-56 (2008)
126. Yera, H., Sendid, B., Francois, N., Camus, D., Poulain, D.: Contribution of serological tests and blood culture to the early diagnosis of systemic candidiasis. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 20, 864-870 (2001)
127. Zaoutis, T.E., Greves, H.M., Lautenbach, E., Bilker, W.B., Coffin, S.E.: Risk factors for disseminated candidiasis in children with candidemia. Pediatr Infect Dis J 23, 635-641 (2004)

128. Zaremba, M.L., Daniluk, T., Rozkiewicz, D., Cylwik-Rokicka, D., Kierklo, A., Tokajuk, G., Dabrowska, E., Pawinska, M., Klimiuk, A., Stokowska, W., Abdelrazek, S.: Incidence rate of *Candida* species in the oral cavity of middle-aged and elderly subjects. *Adv Med Sci* 51 Suppl 1, 233-236 (2006)

Anhang

Anlage 1

Befunderhebungsbogen (S. 94-98)

Anlage 2

Zustimmung der Ethikkommission (S. 99-100)

Anlage 3

Einverständniserklärung der Erziehungsberechtigten/Eltern (S. 101)

Anlage 4

Informationsschreiben an die Eltern (S. 102-103)

Projektgruppe
 Mikrobiologie der Mundhöhle
 Poliklinik für Kinderzahnheilkunde
 Direktor: Prof. Dr. W.-E. Wetzel
 Schlangenzahl 14
 D-35392 Gießen

Befunderhebungsbogen

Kennnummer: Gruppe: ☐ I: Probanden
☐ II: Endokarditispflicht
☐ III: Endokarditispflicht u. Immunsuppression

Geb. datum:

Alter in Monaten:

Geschlecht: ☐ männlich ☐ weiblich

Regelmäßige Konsultationen des Hauszahnarztes? ☐ ja ☐ nein

Untersuchungsdatum:

1. Zahnstatus

18	17	16	15	14	13	12	11	21	22	23	24	25	26	27	28
			55	54	53	52	51	61	62	63	64	65			
			85	84	83	82	81	71	72	73	74	75			
48	47	46	45	44	43	42	41	31	32	33	34	35	36	37	38

D/d= kariös, M/m= fehlt, F/f= gefüllt, FV= Fissurenversiegelung
 i.D.= im Durchbruch, Fi= Fistel * = Fe= Fehlstrukturierung,

2. DMF/dmf (T/t)- Befunde

DMF- Wert:
 D- Wert:
 M- Wert:
 F- Wert:

dmf- Wert:
 d- Wert:
 m- Wert:
 f- Wert:

DMF/dmf- Gesamtwert:
 D/d- Gesamtwert:
 M/m- Gesamtwert:
 F/f- Gesamtwert:

3. a) Röntgen

☐ ja ☐ nein

wenn ja, welche? _____

b) Fotos?

☐ ja ☐ nein

Kennnummer: Gruppe: I: Probanden
 Geb. datum: II: Endokarditispflicht
 Alter in Monaten: III: Endokarditispflicht
 Geschlecht: männlich weiblich u. Immunsuppression
 Untersuchungsdatum:

4. Mikrobiologische Untersuchung

a) Untersuchung des Speichels am:

___ Vergrünende Streptokokken
 ___ nicht hämolysierende Strp.
 ___ Saprophytäre Neisserien
 ___ Corynebacterium sp.
 ___ Sonstige
 ___ Candida

0: keine; 1: einzelne (< 10 KBE);

2: wenig ($10 - 10^2$ KBE);

3: viel ($10^2 - 10^3$ KBE);

4: massenhaft ($> 10^3$ KBE)

___ Strp. Mutans

___ Lactobazillen

0: keine; 1: wenig (< 10^5 KBE/ml Speichel);

2: viel ($\geq 10^5$ KBE/ml Speichel)

Pufferkapazität: pH-Wert ___

1: hoch (pH > 6);

2: mittel (pH 4,5 - 5,5);

3: niedrig (pH < 4)

b) Untersuchung der Plaque am:

___ Vergrünende Streptokokken
 ___ nicht hämolysierende Strp.
 ___ Saprophytäre Neisserien
 ___ Corynebacterium sp.
 ___ Sonstige
 ___ Candida

0: keine; 1: einzelne (< 10 KBE);

2: wenig ($10 - 10^2$ KBE);

3: viel ($10^2 - 10^3$ KBE);

4: massenhaft ($> 10^3$ KBE)

c) Untersuchung der kariösen Substanz am:

___ Vergrünende Streptokokken
 ___ nicht hämolysierende Strp.
 ___ Saprophytäre Neisserien
 ___ Corynebacterium sp.
 ___ Sonstige
 ___ Candida

0: keine; 1: einzelne (< 10 KBE);

2: wenig ($10 - 10^2$ KBE);

3: viel ($10^2 - 10^3$ KBE);

4: massenhaft ($> 10^3$ KBE)

d) Untersuchung des Stuhls am:

___ Candida

0: keine; 1: einzelne (< 10 KBE);

2: wenig ($10 - 10^2$ KBE);

3: viel ($10^2 - 10^3$ KBE);

4: massenhaft ($> 10^3$ KBE)

e) Blut erhalten am:

.....

Kennnummer:
 Geb. datum:
 Alter in Monaten:
 Geschlecht: ☐ männlich ☐ weiblich
 Untersuchungsdatum:
 Gruppe: ☐ I: Probanden
☐ II: Endokarditispflicht
☐ III: Endokarditispflicht u. Immunsuppression

5. Allgemeine Anamnese

a) Chemotherapie: ja ☐ nein ☐

Art der Erkrankung: _____

Krankheitsverlauf:
(Beginn, Behandlung) _____

Operationen: _____

Medikation: _____

b) Herzerkrankungen: ja ☐ nein ☐

Art der Erkrankung: _____

Krankheitsverlauf:
(Beginn, Behandlung) _____

Operationen: _____

Medikation: _____

Endokarditisprophylaxe? ☐ ja ☐ nein

c) Sonstiges:

	ja	nein
Stoffwechselkrankheiten:	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Erkrankungen des Blutes:	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Allergien/ Allergiepass:	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Schilddrüsenerkrankungen:	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Asthma/ Lungenerkrankungen:	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Lebererkrankungen/ Hepatitis:	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Nierenerkrankungen:	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Immunschwäche (HIV):	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Sonstige Erkrankungen (Tbc):	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Werden z. Zt. Medikamente genommen?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Kennnummer:
 Geb. datum:
 Alter in Monaten:
 Geschlecht: ☐ männlich ☐ weiblich
 Untersuchungsdatum:
 Gruppe: ☐ I: Probanden
 II: Endokarditispflicht
 III: Endokarditispflicht
 u. Immunsuppression

8. Kariogene Ernährungseinflüsse

Stillen bis:
 Saugerflasche von: bis:
 Inhalt:
 Schnabelflasche von: bis: tagsüber ☐ nachts ☐
 Sport-Ventilflasche von: bis: tagsüber ☐ nachts ☐
 Inhalt:
 Frühstück:
 Mittags:
 Zwischendurch:
 Abends:
 Getränke:
 Süßigkeiten:

Fluoridierung

Rachitis-/Kariesprophylaxe: von: bis:
 Fluorid-Tabletten: von: bis:
 fluoridiertes Speisesalz: ja ☐ nein ☐

Mundhygiene

Zahnpflege: mal täglich
 geputzt wird von: Eltern ☐ Kind ☐
 Derzeitiger Pflegezustand:
 gut ☐
 mittel ☐
 schlecht ☐

JUSTUS-LIEBIG-

UNIVERSITÄT
GIESSEN

FACHBEREICH 11



Medizin

Ethik-Kommission, Gaffkystr. 11c, D-35385 Gießen

Frau
Dr. F. Ansari / Dr. Schulz-Weidner
Poliklinik für Kinderzahnheilkunde
Zentrum für ZMK
Schlangenzahl 14

35385 Gießen

**ETHIK-KOMMISSION
am Fachbereich Medizin**

Vorsitz: Prof.Dr.Drs. h.c. K. Federlin
Gaffkystr. 11c
D-35385 Gießen
Tel.: (0641)99-47660/42470

Gießen, den 14. September 2004
Az.: Prof.Fed./Erb

**Unser Zeichen: 130/04
Sitzung am: 02.09.2004**

Titel: *Orointestinale und humorale Candidabesiedelung bei gesunden, immunsupprimierten und endokarditisprophylaxepflichtigen Kindern.*

Es handelt sich um eine Erstbegutachtung für den Leiter der Klinischen Prüfung (LKP) ☒

Es handelt sich um eine Anschlussbegutachtung ☐

Eingesandte Unterlagen:

- ☒ Formalisierter Antrag
- ☒ Ausführliche Darstellung des Vorhabens
- ☒ Patienten/Probanden/Eltern-Information
- ☒ Einwilligungserklärung der Patienten/
- ☒ Abteilungsleiter-Haftpflicht-Versicherung

Der Antrag wurde unter ethischen, medizinisch-wissenschaftlichen und rechtlichen Gesichtspunkten geprüft. Soweit betreffend, wurde **das auf Seite 2 wiedergegebene Protokoll** unter Berücksichtigung des Good Clinical Practice for Trials on Medicinal Products in the European Community (ICH-GCP) erstellt. Es bezieht sich auf die vorgelegte Fassung des Antrags.

Forderungen der Ethik-Kommission, soweit darin aufgeführt, wurden inzwischen erfüllt. ☐

Sie stimmt dem Vorhaben zu. ☒

Sie stimmt dem Vorhaben unter Auflagen zu (siehe S. 2). ☐

Sie stimmt dem Vorhaben nicht zu (siehe S. 2). ☐

Die Ethik-Kommission erwartet, daß ihr bis 20.12.04 ohne Aufforderung ein kurzer Bericht auf beigefügtem (roten) Formblatt übermittelt wird. Er soll mitteilen, ob das Ziel der Studie erreicht wurde, ob ethische, medizinisch-wissenschaftliche oder rechtliche Probleme aufgetreten sind, und ob das Ergebnis publiziert ist/wird. Unabhängig davon ist die Ethik-Kommission über alle Änderungen des Prüfplans zu unterrichten. Ihr sind alle schweren unerwünschten Wirkungen mitzuteilen, soweit sie im Bereich der Zuständigkeit dieser Ethik-Kommission aufgetreten sind. Bei überregionalen Studien sind sie auch dem LKP mitzuteilen.

Die ärztliche und juristische Verantwortung des Leiters der klinischen Prüfung und der an der Prüfung teilnehmenden Ärzte bleibt entsprechend der Beratungsfunktion der Ethik-Kommission durch unsere Stellungnahme unberührt.

Seite 2

Auszug aus dem Protokoll der Kommissionsitzung vom 22.07.2004:

Frau Dr. Ansari trägt das Vorhaben vor. Es handelt sich um eine unizentrische Studie in Gießen, die gemeinsam mit der Abteilung für Medizinische Mikrobiologie durchgeführt werden soll. Es soll die Frage beantwortet werden, ob sich das Keimspektrum des Oro-Intestinaltraktes allgemein gesundheitlich reduzierter Kinder von dem gesunder Jungen und Mädchen unterscheidet. Ferner soll geprüft werden, ob auch bei Kindern mit problematischen Allgemeinerkrankungen eine Stammverwandtschaft zwischen dem Candida-Keim der Mundhöhle und des Magen-Darm-Traktes besteht. Weiterhin soll untersucht werden, ob bei gesunden und gesundheitlich reduzierten Kindern Hefen in Blutproben nachzuweisen sind und ob eine Candida-Besiedelung der Mundhöhle bei Kindern mit schwerwiegenden Allgemeinerkrankungen häufiger mit Symptomen einer Soor-Erkrankung und/oder anderen oralen Entzündungssymptomen begleitet wird. Die Studie soll bei 4 Gruppen von je 20 Kindern vorgenommen werden: Gruppe 1 = gesunde Probanden, d.h. Kinder die ausschließlich aus zahnmedizinischen Gründen die Zahnklinik aufgesucht haben. 2. Kinder mit Herzerkrankungen aus dem Kinderherzzentrum des Klinikums Gießen, die Endokarditisprophylaxe betreiben müssen. 3. Immunsupprimierte Kinder (Kreislauferkrankungen unter Chemotherapie, Station Piper der Kinderklinik), 4. Herztransplantierte Kinder mit Immunsuppression und Endokarditisprophylaxe. Die Belastungen bestehen in Blutentnahmen (pädiatrische Routinediagnostik, keine Extramaßnahme) und in Röntgendiagnostik zum Ausschluss dentogener Osteolyseprozesse im Kieferkochen (keine Extramaßnahme). Die Fahrten zum Untersuchungsort und Termin gehören zur klinischen Diagnostik. Nach eingehender Diskussion stimmt die Kommission dem Vorhaben zu.

(Ende)



(Prof. Dr. Drs. h.c. K. Federlin)

Die Namen der bei dieser Sitzung anwesenden Mitglieder sind durch Unterstreichungen hervorgehoben.

Mitglieder: Frau Dr. Blütters-Sawatzki (Pädiatrie); Dr. Bödeker (Informatik); Prof. Breithaupt (Klinische Pharmakologie); Herr Brumhard (Pharmazie); Prof. Federlin, Vorsitzender (Innere Medizin); Prof. Schapp (Bürgerliches Recht); Prof. Schmidt (Pharmakologie); Prof. Schwemmlé, stv. Vorsitzender (Chirurgie); Prof. Weiler (Rechtsmedizin).

Vertreter: Prof. Dudeck (Informatik); Dr. Gödicke (Bürgerliches Recht); Frau Prof. Kemkes-Matthes (Innere Medizin); Frau Kreckel (Pharmazie); Prof. Künzel (Gynäkologie); Prof. Lasch (Innere Medizin); PD Dr. Repp (Pharmakologie); PD Dr. Riße (Rechtsmedizin).

Projektgruppe Mikrobiologie der Mundhöhle

Poliklinik für Kinderzahnheilkunde

Direktor: Prof. Dr. W.-E. Wetzel

Schlangenzahl 14

D-35392 Gießen

Telefon: 0641/99-46241

Telefax: 0641/99-46239

Einverständniserklärung

Name:..... Vorname:.....

Geburtsdatum:.....

Ich bin mit der zahnärztlichen Untersuchung und der Abstrichabnahme bei meinem Kind einverstanden. Der zusätzlichen Untersuchung der Blut- und Stuhlprobe auf einen möglichen Candidabefall stimme ich zu.

In einem Merkblatt wurde ich über die Untersuchungen der Studie aufgeklärt. Ich konnte Fragen stellen. Sie wurden zu meiner Zufriedenheit beantwortet. Ich habe keine weiteren Fragen. Eine Kopie des Merkblattes habe ich erhalten.

Ich bin darüber informiert worden, dass meine persönlichen Daten den Bestimmungen des Datenschutzgesetzes unterliegen. Ich stimme ihrer Veröffentlichung unter der Voraussetzung zu, dass jeder Bezug zu meiner Person unkenntlich gemacht wird.

Mit der Teilnahme an der klinischen Studie bin ich einverstanden.**Mein Einverständnis umfasst auch die beschriebene Verwendung meiner personenbezogenen Daten, insbesondere die Erhebung und Verarbeitung von Angaben über meine Gesundheit.**.....
(Ort, Datum).....
(Unterschrift Patient/in/ Erziehungsberechtigte(r))

Projektgruppe Mikrobiologie der Mundhöhle

Poliklinik für Kinderzahnheilkunde

Direktor: Prof. Dr. W.-E. Wetzel

Schlangenzahl 14

D-35392 Gießen

Telefon: 0641/99-46241

Telefax: 0641/99-46239

Gießen, 2004

Sehr geehrte, liebe Eltern!**Was hat ein angeborener Herzfehler mit schlechten Zähnen zu tun?**

Bakterien, die im Mund Zahnfleischentzündungen (Gingivitis) und Zahnfäule (Karies) auslösen, können bei Zahntentfernungen über eine Bakterienstreuung in die Blutbahn (Bakteriämie) durchaus eine Entzündung der Herzinnenhaut / Herzklappen (Endokarditis) auslösen. Um das zu verhindern, muss vorbeugend ein Antibiotikum bei allen blutigen Eingriffen eingenommen werden. Zusätzlich kann Karies bei tiefen Zerstörungen der Zahnkrone aber auch zum Absterben des Zahnmarks der Zähne (Pulpa) und zu einer weitergeleiteten Entzündung im Kieferknochen führen.

Die Behandlung und / oder Beseitigung kariöser Zähne und gravierender Zahnbetterkrankungen ist deshalb dringend erforderlich. Durch diese Maßnahmen, gekoppelt mit gezielter Mundhygiene und Ernährungslenkung, wird die Menge an schädigenden Keimen entscheidend reduziert. Damit sinkt auch die Wahrscheinlichkeit, an einer Endokarditis zu erkranken.

In den letzten Jahren konnten in der Giessener Kinderzahnheilkunde bereits richtungsweisende Zusammenhänge zwischen der Zahnkaries und der Anwesenheit von Pilzen dargestellt werden. Zusätzlich ließ sich sogar eine Abhängigkeit zwischen der Pilzbesiedelung in der Mundhöhle und im Magen-Darm-Trakt nachweisen.

Ausgehend von diesen Erkenntnissen bieten wir an, auch ihr Kind auf das Vorhandensein von kariösen Zähnen zu untersuchen, um die beschriebenen Komplikationen durch Zahnerkrankungen zu vermeiden. Dabei soll überprüft werden, welche Bakterien und Pilze sich im Speichel- und Zahnbelag und in der erweichten kariösen Zahnschubstanz befinden. Dazu sind lediglich ein Speichel-Zahnbelagabstrich und die schmerzfreie Entnahme von kariöser Zahnschubstanz mittels Löffelinstrument erforderlich. Außerdem bitten wir Sie noch um die Zusendung einer Stuhlprobe Ihres Kindes. Eine zusätzliche Blutentnahme wird nicht erforderlich, da die Blutuntersuchung auf das Vorhandensein von Pilzen im Rahmen der Herzkontrolle beim Kinderarzt vorgenommen werden kann.

Selbstverständlich wird die Auswertung der Befunde dann völlig anonym und unter Beachtung der gesetzlichen Bestimmungen des persönlichen Datenschutzes erfolgen. Als Eltern haben Sie aber das Recht, jederzeit die Ergebnisse der Untersuchungen von uns zu erfahren. Für den Fall, dass Ihr Kind also teilnehmen möchte und Sie damit einverstanden sind, bitten wir Sie, die dafür vorgesehene Einverständniserklärung zu unterzeichnen.

Für weitere Informationen und Rücksprachen stehen Ihnen Frau Dr. Franziska Ansari und Frau Dr. Nelly Schulz-Weidner als Projektleiterinnen sowie unsere Doktorandin Frau Rachida Siahi unter der oben angegebenen Telefonnummer oder persönlich gerne zur Verfügung.

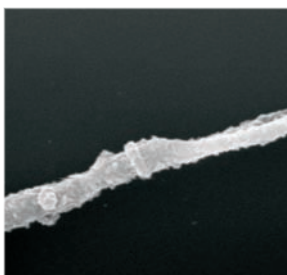
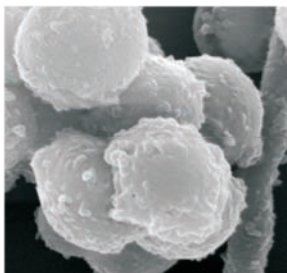
Lebenslauf

Name	Rachida Siahi-Benlarbi geb. Siahi
Geburtsdatum	08. August 1978
Geburtsort	Neuss
Eltern	Mimoun Siahi Darifa El Harchi epoussé Siahi
Geschwister	Sounia Siahi Rachid Siahi Youssef Siahi Jassin Siahi
Schulischer und beruflicher Werdegang	
1984-1988	Barbara-Grundschule Neuss
1988-1990	Kardinal-von-Galen-Hauptschule Neuss
1990-1994	Städt. Realschule und Aufbaurealschule Neuss
1994-1997	Nelly-Sachs-Gymnasium Neuss
Juni 1997	Erlangen der allgemeinen Hochschulreife
1997-1998	Freiwilliges Soziales Jahr
1998-1999	Altenpflegehelferin Caritasverband Düsseldorf
1998-2000	Ausbildung zur Gesundheitstrainerin beim D.F.A.V. und Wirbelsäulenlehrerin bei SAFS & BETA
Oktober 1999	Studium der Zahnheilkunde Justus-Liebig-Universität Giessen
Juli 2000	Naturwissenschaftliche Vorprüfung
April 2002	Zahnärztliche Vorprüfung
November 2005	Zahnärztliche Prüfung
Seit Januar 2006	Wissenschaftliche Mitarbeiterin am Zentrum für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde der Justus-Liebig- Universität Giessen, Poliklinik für Kinderzahnheilkunde
Seit 2007	Zahnmedizinisch - wissenschaftliche Beraterin für die Deutsche Gesellschaft für Osteogenesis imperfecta (Glasknochenkrankheit) Betroffene e. V.

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich ganz herzlich bedanken bei:

- Herrn Professor Dr. W.-E. Wetzel für die Überlassung des Themas sowie die freundliche Unterstützung für die Durchführung dieser Arbeit,
- dem Institut für medizinische Mikrobiologie der Justus-Liebig-Universität Giessen für die gute Zusammenarbeit, besonders Herrn Prof. Dr. A. Sziegoleit und Prof. Dr. E. Domann für die nette Betreuung,
- dem Institut für medizinische Informatik der Justus-Liebig-Universität Giessen für Erstellung und Erklärung der statistischen Auswertung, insbesondere Herrn W. Pabst,
- den Mitarbeitern der Poliklinik für Kinderzahnheilkunde Fr. I. Heidmann (MTA), Frau C. Schneiderat, Fr. J. Burkhardt-Stauß, Frau S. Hermann, Frau Dr. V. Müller-Lessmann, Frau Dr. F. Ansari, Fr. Dr. N. Schulz-Weidner, Fr. Dr. V. Knapp und Fr. Dr. S. Nies für die Einführung in die Patientenbehandlung und
- ...Oussama.



édition scientifique
VVB LAUFERSWEILER VERLAG

VVB LAUFERSWEILER VERLAG
STAUFENBERGRING 15
D-35396 GIESSEN

Tel: 0641-5599888 Fax: -5599890
redaktion@doktorverlag.de
www.doktorverlag.de

ISBN 3-8359-5342-7



9 783835 195342 0